



**PCT**

PCT/JP02/06021 2002 年6 月17 日 (17.06.2002) JP

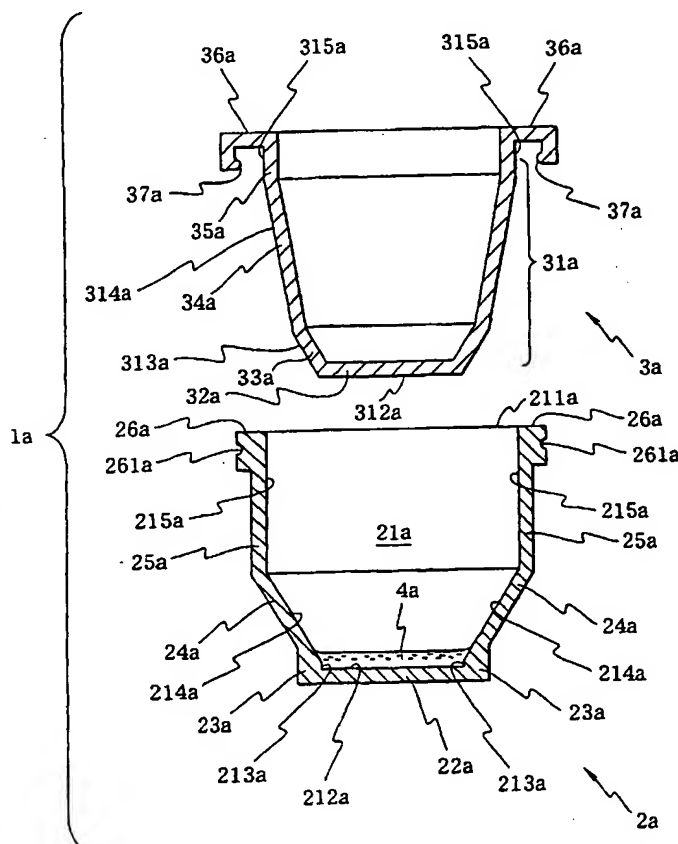
(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): プレシジョン・システム・サイエンス株式会社 (PRECISION SYSTEM SCIENCE CO.,LTD.) [JP/JP]; 〒271-0064 千葉県 松戸市上本郷 8 8 Chiba (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 田島 秀二 (TAJIMA, Hideji) [JP/JP]; 〒271-0064 千葉県 松戸市 上本郷 88 プレシジョン・システム・サイエンス株式会社内 Chiba (JP) 浅野 務 (ASANO, Tsutomu) [JP/JP]; 〒271-0064 千葉県 松戸市 上本郷 88 プレ

〔統葉有〕

(54) 発明の名称: 反応容器及び反応装置



(57) **Abstract:** A reaction container, a reaction device, and a reaction method allowing the automatization of reaction without requiring a centrifugal force when reaction liquid is stored in a reaction chamber, capable of rapidly controlling the temperature of the reaction liquid stored in the reaction chamber, capable of advancing the reaction even if the amount of the liquid stored in the reaction chamber is very small, and allowing the reaction occurring in the reaction chamber to be monitored in real time, wherein the control of the temperature of the reaction liquid (4a) stored in an enclosed space (S1a) is performed through a bottom plate part (22a) forming a reaction container body (2a) and a pressing part (32a) forming a cover material (3a), and the detection of the radiation of excitation light on the reaction liquid (4a) and the fluorescent light emitted from the reaction liquid (4a) is performed through a first side plate part (23a) forming the reaction container body (2a).

〔続葉有〕

**WO 03/004596 A1**



シジョン・システム・サイエンス株式会社内 Chiba (JP).

(74) 代理人: 早川 裕司, 外(HAYAKAWA, Yuzi et al.); 〒104-0061 東京都中央区銀座 6-10-16 パレ銀座ビル10F アーケイディア特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(57) 要約:

反応液を反応室に収容する際に遠心を必須せず反応の自動化を可能とし、反応室に収容された反応液の温度を迅速に制御することができるとともに、反応室に収容された反応液の量が微量であっても反応を進行させることができ、さらには反応室内で生じている反応をリアルタイムにモニタリングすることができる反応容器、反応装置及び方法を提供することを目的とし、密閉空間S1aに収容された反応液4aの温度制御を、反応容器本体2aを構成する底板部22a及び蓋材3aを構成する押圧部32aを介して行なうとともに、反応液4aへの励起光の照射及び当該反応液4aから発せられる蛍光の検出を、反応容器本体2aを構成する第一側板部23aを介して行なう。

## 明 細 書

### 反応容器及び反応装置

#### 技術分野

本発明は、反応液の温度を迅速に制御できるとともに反応をリアルタイムでモニタリングできる反応容器、反応装置及び方法に関する。

#### 背景技術

ポリメラーゼ連鎖反応（以下「PCR」という。）は、耐熱性ポリメラーゼとプライマーとを利用し、温度の昇降によって標的核酸を増幅させる技術であり、遺伝子工学や生物学的試験法・検出法等の分野で広く利用されている。

PCRの原理は、標的DNA配列を含む2本鎖DNAが1本鎖に解離する温度に維持する第1段階と、解離した1本鎖DNAに正方向及び逆方向のプライマーがアニーリングする温度に維持する第2段階と、DNAポリメラーゼによって1本鎖DNAに相補的なDNA鎖が合成される温度に維持する第3段階の3段階に設定したサーマルプロフィール（温度昇降）に従ったサイクルを多数回繰り返すことにより、標的DNAを幾何級数的に増幅させる点にある。

例えば、標的DNA配列を含む2本鎖DNAと過剰量の1対のプライマーと耐熱性ポリメラーゼとを含む反応液を、95℃で30秒、65℃で30秒、72℃で1分を1サイクルとして30～40サイクル反応させることによりPCRを進行させることができる。95℃では2本鎖DNAは解離して1本鎖DNAとなる。次いで、プライマーの塩基配列に応じて適当な温度（上記例では65℃）に冷却すると、プライマーと1

本鎖DNAとがアニーリングする。次いで、ポリメラーゼの反応温度（上記例では72℃）に上昇させると、ポリメラーゼによるDNA合成反応が進行する。

このように、PCRにおいては反応液の温度制御が重要であるので、PCRは、通常、温度コントロールをプログラムできる恒温装置と該装置に使用できる反応容器とを利用して実施される。

最も一般的には、加熱・冷却装置が装備された金属ブロックの穴にマイクロチューブを密着させ、金属ブロックを介して、マイクロチューブ中の反応液に対し、加熱（2本鎖DNAの解離）、冷却（プライマーのアニーリング）、加熱（ポリメラーゼによる伸長反応）のサイクルを繰り返す装置が使用される。金属ブロックの冷却方式には、コンプレッサーを用いるものと、ペルチェ冷却方式のものの2種類がある。最近では、金属ブロックを使用するのではなく、マイクロチューブをラックごと移動して、3つの温度の独立した液相又は固相のインキュベーターに順次浸漬することにより、マイクロチューブ中の反応液に対し、加熱（2本鎖DNAの解離）、冷却（プライマーのアニーリング）、加熱（ポリメラーゼによる伸長反応）のサイクルを繰り返す装置もある。

スクリーニングを目的してPCRを行なう場合のように検体数が多い場合には、多数の検体を一度に処理するために、PCR用マイクロタイタープレート（96ウェル）を用いて96検体のPCRを一度に行なうことができる装置も開発されている。

特に最近、遺伝子診断やゲノムプロジェクトにおいて多数の検体を効率よく処理するために、標的核酸を含む試料の調製（例えば、細胞からの核酸の抽出など）、PCRによる標的核酸の増幅、PCRの進行状況（例えば、標的核酸の増幅の有無、PCR増幅産物の量など）のモニタリング（例えば、検出、測定、定性分析、定量分析など）といった一連の作



業を自動化し、多数の検体を並列的に効率よく処理する必要性が高まっている。そして、これら一連の作業を自動化し、多数の検体を並列的に効率よく処理するためには、第一にPCRに要する時間を出来るだけ短縮すること、第二にPCRに要する検体の量を出来るだけ少量にすること、第三にPCRの進行状況をリアルタイムに（すなわちPCRの進行中に即座に）モニタリングにすることが必要となる。

しかし、従来のPCR用反応装置及びPCR用反応容器は、95℃で30秒、65℃で30秒、72℃で1分を1サイクルとして30～40サイクル反応させるといった典型的な温度制御によってPCRを実施することを目的としているため、従来のPCR用反応装置及びPCR用反応容器を用いて、PCRに要する時間を出来るだけ短縮するという目的を達成することは困難である。例えば、従来のPCR用反応装置及びPCR用反応容器を用いて、95℃で30秒、65℃で30秒、72℃で1分を1サイクルとして30～40サイクル反応させた場合には、PCRを完了するまでに1時間程度の時間を要することとなる。

また、従来のPCR用反応装置及びPCR用反応容器において、検体（反応液）の量が少なすぎると、PCRの途中で反応液中の溶媒（通常は水）が蒸発し、反応が停止してしまう場合がある。これは、PCRが進行する反応室（例えば、マイクロチューブ、マイクロタイタープレートのウェル）内における空気と反応液との接触面積が大きいため、反応液中の溶媒が蒸発しやすい環境にあること、並びに、反応室内壁の温度が不均一であり、反応室内壁に反応液の温度よりも低い部分が存在するため（例えば、マイクロチューブの上部、マイクロタイタープレートのウェルの上部）、蒸発した溶媒がその部分で液化してしまうこと、等が原因である。従って、従来のPCR用反応装置及びPCR用反応容器を用いて、反応液の量を出来るだけ少量とするという目的を達成することは

困難である。

このような状況の下、少量の反応液を、表面積が大きく熱伝導性のよいマイクロキャピラリーに封入して、ハロゲンランプ等を熱源とする熱風と室温の冷風で加熱・冷却を行なう装置が開発された。このタイプの装置としては、例えば、ライトサイクラー (LightCycler) (Roche Molecular Biochemicals 製) が市販されている。この装置では、表面積が大きく熱伝導性のよいマイクロキャピラリーを利用することによって、約 20℃/秒の温度制御が可能となり、1 サイクルに 30～60 秒程度しか要せず、30 サイクルを 15～30 分程度で完了することができる。また、マイクロキャピラリーを利用することによって 5～20  $\mu$ l 程度の微量の反応液を用いた PCR を実現することができる。さらには、キャピラリーの先端部に照射光のほとんどが集光するというガラスキャピラリーの特性などによって、反応液から PCR 増幅産物量に応じて発せられる蛍光を迅速かつ感度よく測定することができるので、PCR の進行状況をリアルタイムで測定することが可能である。

このように、PCR 用反応容器としてマイクロキャピラリーを用いた PCR 用反応装置は、反応液の迅速な温度制御によって PCR に要する時間を短縮できるとともに、PCR に要する反応液の量を微量とすることができ、さらには PCR の進行状況をリアルタイムで測定することができるので、PCR を単独で実施する際には極めて有用である。

しかしながら、この PCR 用反応装置では、マイクロキャピラリーに反応液を封入する際に、ガラスキャピラリーの上部に設置されたプラスチックコンテナに反応液を添加し、プラスチックストッパーで封止した後、遠心機にかけて反応液をプラスチックコンテナからガラスキャピラリー内へ移動させ、その後、各キャピラリーを遠心機から取り外し反応装置に設置する作業が必要となる。また、マイクロキャピラリーに反応

液を封入する際に空気が混入すると、PCRの過程で加熱により空気が膨張し、マイクロキャピラリー内を反応液が移動してPCRの増幅効率の低下等を引き起こすため、マイクロキャピラリーに反応液を封入する際には細心の注意を払う必要がある。

従って、PCR用反応容器としてマイクロキャピラリーを用いたPCR用反応装置を、標的核酸を含む試料の調製（例えば、細胞からの核酸の抽出など）、PCRによる標的核酸の増幅、PCRの進行状況（例えば、標的核酸の増幅の有無、PCR増幅産物の量など）のモニタリングといった一連の作業を自動化するために利用することは困難である。

また、いずれのPCR用反応装置及びPCR用反応容器を使用する場合であっても、PCRの途中で反応液中の溶媒（通常は水）が蒸発して反応が停止してしまうことを防止するために、反応液が収容された反応容器本体に蓋材を被着して、PCRが進行する反応室（例えば、マイクロチューブ、マイクロタイタープレートのウェル）内を密閉する必要がある。したがって、従来のPCR用反応装置及びPCR用反応容器においては、PCRによって得られた増幅断片を取得するために、一旦、反応容器本体から蓋材を脱着する必要がある、PCRによる標的核酸の増幅から増幅断片の取得に至るまでの作業を自動化することは困難である。

### 発明の開示

そこで、本発明の第一の目的は、反応液を反応室に収容する際に遠心を必須せず反応の自動化を可能とし、反応室に収容された反応液の温度を迅速に制御することができるとともに、反応室に収容された反応液の量が微量であっても反応を進行させることができ、さらには反応室内で生じている反応をリアルタイムに（すなわち反応進行中に即座に）モニタリングすることができる反応容器、反応装置及び方法を提供すること

にある。

また、本発明の第二の目的は、上記第一の目的を達成できるとともに、蓋材を反応容器本体に被着した状態で反応を行なった後、蓋材を反応容器本体から脱着することなく、反応容器内の反応液に含まれる反応産物を取得できる反応容器、反応装置及び方法を提供することにある。

(1) 上記目的を達成するために、本発明の反応容器は、開口部を有し反応液を収容し得る反応室を具備する反応容器本体と、前記反応室の開口部を封止し得る蓋材とを備えた反応容器であって、前記蓋材及び前記反応室は、前記蓋材が前記反応容器本体に被着された状態において、前記反応室に収容された反応液と接触する接触面を有しており、前記反応室に収容された反応液から前記反応容器の外部へ、前記蓋材の接触面を介して光が透過し得るように、前記蓋材が光透過性材料で構成されているか、あるいは、前記反応室に収容された反応液から前記反応容器の外部へ、前記反応室の接触面を介して光が透過し得るように、前記反応容器本体が光透過性材料で構成されていることを特徴とする。

反応容器本体が具備する反応室は、開口部を有し反応液を収容し得るものであり、反応液は、反応室の開口部から添加され反応室に収容される。反応室は、目的の反応を生じさせる場所であり、反応室に収容される反応液には、目的の反応を生じさせるために必要な成分、反応の進行性を測定するために必要な試薬（例えば蛍光色素などの発光物質）などが含まれる。

反応室は、開口部を有し反応液を収容し得るものであれば、その構造は特に限定されるものではない。一般的には、反応室は、上端に開口部を有する凹部として反応容器本体に形成される。反応室は、薄板によって構成された凹部として反応容器本体に形成されていることが好ましい。

この場合、反応室の外部と反応室内の反応液との熱移動を、当該薄板を介して行なうことによって、反応液の温度制御を迅速かつ効率よく行なうことができる。また、反応室への光の照射及び反応液から発せられる光の検出を、当該薄板を介して行なうことによって、照射条件や受光条件の設定が容易となる。

反応室は、キャピラリー（毛細管）のような構造を有している必要はなく、反応室に反応液を収容する際に遠心は必須とならない。本発明の反応容器においては、反応容器本体に蓋材を被着すると、蓋材（例えば蓋材に設けられた凸部）が反応室の開口部から反応室の内部に進入し、反応室に収容された反応液と接触するようになっているので、反応室は蓋材（例えば蓋材に設けられた凸部）が進入しやすい構造を有していることが好ましい。また、反応室は、反応液の分注を自動化する点から、開口部から添加された反応液がそのまま（反応液に下方へ重力以外の力を加えなくても）反応室の底面に到達し得るような構造を有していることが好ましい。従って、本発明の反応容器において、反応室がキャピラリーのような構造を有していることはむしろ適当ではない。

蓋材が反応容器本体に被着されると、反応室の開口部は蓋材によって封止される。これによって、反応室に収容された反応液へのコンタミネーションを防止でき、反応室内において目的の反応を正確に生じさせることが可能となる。反応容器本体が複数の反応室を具備する場合には、各反応室の開口部が蓋材によって封止され、一の反応室に収容された反応液が他の反応室の反応液に混入することを防止することができ、これにより各反応室内において目的の反応を正確に生じさせることが可能となる。

反応室に収容された反応液へのコンタミネーションを防止する点からは、蓋材が、反応室の開口部の周部と密着し得る第一の密着部を有する

ことが好ましい。この場合、蓋材が有する第一の密着部と反応室の開口部の周部とが密着して反応室が密封され、反応液へのコンタミネーションを防止することができる。

また、反応室に收容された反応液へのコンタミネーションを防止する点からは、蓋材が、反応室の内周面（反応容器本体に形成された凹部の内周面）と密着し得る第二の密着部を有することが好ましい。この場合、蓋材が有する第二の密着部と反応室の内周面とが密着して反応室が密閉され、反応液へのコンタミネーションを防止することができる。

蓋材の構造は、蓋材が反応容器本体に被着された状態において反応液と接触し得る接触面を有する限り特に限定されない。蓋材の構造としては、凸部が形成された平板を例示することができる。この場合、反応容器本体に蓋材を被着すると、凸部が反応室の開口部から反応室の内部に進入し、反応室に收容された反応液と接触する。蓋材に形成される凸部は、薄板によって構成されることが好ましい。この場合、蓋材の外部と反応室内の反応液との熱移動を、当該薄板を介して行なうことによって、反応液の温度制御を迅速かつ効率よく行なうことができる。また、反応室への光の照射及び反応液から発せられる光の検出を、当該薄板を介して行なうことによって、照射条件や受光条件の設定が容易となる。

蓋材及び反応室は、蓋材が反応容器本体に被着された状態において、反応室に收容された反応液と接触する接触面を有する。本発明において、反応液と接触する反応室の面を「反応室の接触面」といい、反応液と接触する蓋材の面を「蓋材の接触面」という。なお、反応室の接触面及び蓋材の接触面は、必ずしも一定の面を意味するのではなく、条件（例えば反応室に收容される反応液の容量）によって変化する（例えば接触面積が増減する）場合がある。例えば、蓋材の凸部が反応液を押圧することによって、反応液の液面が上昇し、反応室の接触面及び蓋材の接触面

が増加する場合がある。

本発明の反応容器において、反応室内において目的の反応を生じさせる際には、必要に応じて反応液の温度を制御する。反応液の温度制御は、通常、蓋材が反応容器本体に被着された後に行なう。但し、反応液の温度制御は、蓋材が反応容器本体に被着される前及び／又は被着される過程においても行なってよい。反応液の温度制御を蓋材が反応容器本体に被着された後に行なう場合には、反応室の接触面及び／又は蓋材の接触面を介した熱移動により反応液の温度を制御することができる。本発明の反応容器においては、反応室の接触面を介した熱移動ばかりでなく、蓋材の接触面を介した熱移動も可能であるため、反応液の温度制御を迅速に行なうことができる。

本発明の反応容器において、反応室内で生じさせる反応は特に限定されないが、本発明の反応容器は、反応を開始、進行又は停止させる際に反応液の温度を制御する必要がある反応（例えば、酵素反応）に好適に使用することができ、反応を進行させる際に反応液の温度を周期的又は経時的に制御する必要がある反応（例えばPCR）に特に好適に使用することができる。ここで、「反応液の温度制御」には、反応液の温度を変化（昇降）させること、及び反応液の温度を維持することの両者が含まれる。

本発明の反応容器は、反応容器本体及び／又は蓋材と接触するように設けられた熱伝導性金属ブロック又は熱伝導性金属板をさらに備えていてもよい。この場合、反応容器本体と熱伝導性金属ブロック又は熱伝導性金属板との接触面を介して反応容器本体の温度制御が行なわれ、蓋材と熱伝導性金属ブロック又は熱伝導性金属板との接触面を介して蓋材の温度制御が行なわれる。そして、反応室の接触面及び／又は蓋材の接触面を介して、反応液の温度制御が行なわれる。熱伝導性金属ブロック又

は熱伝導性金属板は、反応容器本体と蓋材のいずれか一方に接触するように設けられていてもよいし、両方に接触するように設けられていてもよい。熱伝導性金属ブロック又は熱伝導性金属板は、反応容器本体及び蓋材のそれぞれの形状に従って容易に成形できるので、反応容器本体及び蓋材との接触面積を大きくすることが可能であり、これによって熱伝導性金属ブロック又は熱伝導性金属板を介した熱移動を効率よく行なうことができる。熱伝導性金属ブロック又は熱伝導性金属板は、熱移動の媒体（熱交換器）として使用できる他、反応容器本体を保持する部材や、蓋材を反応容器本体に被着する際に蓋材を加圧する部材としても使用することができる。

本発明の反応容器においては、蓋材が反応容器本体に被着されると、蓋材（例えば蓋材に設けられた凸部）が反応室の開口部から反応室の内部に進入し、反応室内に存在する空気等の気体は反応室外に押出され、その状態で反応室の開口部が封止される。従って、反応室内に存在する空気等の気体の量は蓋材の被着前よりも減少している。さらに、反応室の内部に進入した蓋材（例えば蓋材に設けられた凸部）は、反応室内に収容された反応液と接触するので、反応室に存在する空気等の気体と反応液との接触面積は蓋材の被着前よりも減少している。このように、蓋材が反応容器本体に被着されると、反応室内に存在する空気等の気体が減少するとともに、反応室内に存在する空気等の気体と反応液との接触面積が減少するので、反応室内で目的の反応を進行させる際に、反応室内に存在する空気等の気体への反応液の蒸発を抑制することができる。これによって、反応室に収容された反応液の量が微量であっても反応を進行させることができる。

本発明の反応容器においては、反応室に収容された反応液から反応容器の外部へ、蓋材の接触面を介して光が透過し得るように、蓋材が光透



過性材料で構成されているか、あるいは、反応室に収容された反応液から反応容器の外部へ、反応室の接触面を介して光が透過し得るように、反応容器本体が光透過性材料で構成されている。

反応室に収容された反応液から反応容器の外部への光は、蓋材の接触面の一部を介して透過し得るようになっていてもよいし、蓋材の接触面の全体を介して透過し得るようになっていてもよい。また、反応室に収容された反応液から反応容器の外部へ蓋材の接触面を介して光が透過し得る限り、蓋材の一部のみが光透過性材料で構成されていてもよいし、蓋材の全体が光透過性材料で構成されていてもよい。

反応室に収容された反応液から反応容器の外部への光は、反応室の接触面の一部を介して透過し得るようになっていてもよいし、反応室の接触面の全体を介して透過し得るようになっていてもよい。また、反応室に収容された反応液から反応容器の外部へ反応室の接触面を介して光が透過し得る限り、反応容器本体の一部のみが光透過性材料で構成されていてもよいし、反応容器の全体が光透過性材料で構成されていてもよい。

本発明の反応容器においては、蓋材及び反応容器本体のいずれか一方のみを光透過性材料で構成してもよいし、両方を光透過性材料で構成してもよい。蓋材及び反応容器本体のいずれか一方のみを光透過性材料で構成したとき、他方は光不透過性材料で構成する。

光透過性材料の種類は特に限定されるものではなく、透明又は半透明であって蓋材及び反応容器本体に必要とされる強度を有する材料であればいかなるものを使用してもよい。このような材料としては、例えばプラスチックやガラスなどが挙げられる。

本発明の反応容器において、反応室に収容された反応液から発せられる光（例えば蛍光や化学発光）は、蓋材の接触面及び／又は反応室の接触面を介して反応容器の外部へ透過する。すなわち、本発明の反応容器

においては、反応液を反応室に収容した状態のままで、反応液から発せられる光（例えば蛍光や化学発光）を反応容器の外部にて検出することができる。したがって、反応液から発せられる光が反応室で生じている反応の進行状況の指標となる場合には、反応液から発せられる光を検出することによって、反応の進行状況をリアルタイムで（すなわち反応進行中に即座に）モニタリングすることができる。

ここで、「モニタリング」には、反応進行中に連続的又は断続的に行なわれる定量的又は定性的な測定や分析のほか、反応が定常状態に達した後や反応終了後における定量的又は定性的な測定や分析なども含まれる。また、「反応の進行状況」には、反応の進行の有無や程度などが含まれる。

反応液から発せられる光の検出は、蓋材の接触面及び反応室の接触面のいずれか一方のみを介して行なってもよいし、両方を介して行なってもよい。また、反応液から発せられる光の検出は、蓋材及び／又は反応室の接触面の一部を介して行なってもよいし全体を介して行なってもよい。

（２）本発明の反応容器の第一態様においては、前記反応容器の外部から前記反応室に収容された反応液へ、前記蓋材の接触面を介して光が透過し得るように、前記蓋材が光透過性材料で構成されているか、あるいは、前記反応容器の外部から前記反応室に収容された反応液へ、前記反応室の接触面を介して光が透過し得るように、前記反応容器本体が光透過性材料で構成されている。

本態様に係る反応容器において、反応容器の外部から反応室に収容された反応液へ、蓋材の接触面を介して光が透過し得るように、蓋材が光透過性材料で構成されている場合には、本発明の反応容器の外部に設けられたレーザーなどの光源から発せられる励起光を、蓋材の接触面を介

して反応室に収容された反応液に照射することができる。反応液に蛍光色素などの蛍光体を添加しておけば、反応液への励起光の照射によって蛍光体が励起され、反応液から蛍光が発せられる。反応液から発せられる蛍光は、蓋材の接触面及び／又は反応室の接触面を介して本発明の反応容器の外部へ透過するので、本発明の反応容器の外部に設けられた蛍光検出器によって検出することができる。

また、本態様に係る反応容器において、反応容器の外部から反応室に収容された反応液へ、反応室の接触面を介して光が透過し得るように、反応容器本体が光透過性材料で構成されている場合には、本発明の反応容器の外部に設けられたレーザーなど光源から発せられる励起光を、反応室の接触面を介して反応室に収容された反応液に照射することができる。反応液に蛍光色素などの蛍光体を添加しておけば、反応液への励起光の照射によって蛍光体が励起され、反応液から蛍光が発せられる。反応液から発せられる蛍光は、蓋材の接触面及び／又は反応室の接触面を介して本発明の反応容器の外部へ透過するので、本発明の反応容器の外部に設けられた蛍光検出器によって検出することができる。

本態様に係る反応容器において、反応容器の外部から反応室に収容された反応液への光は、蓋材及び／又は反応室の接触面の一部を介して透過し得るようになっていてもよいし、全体を介して透過し得るようになっていてもよい。また、反応容器の外部から反応室に収容された反応液へ蓋材の接触面を介して光が透過し得る限り、蓋材の一部のみが光透過性材料で構成されていてもよいし、蓋材の全体が光透過性材料で構成されていてもよい。また、反応容器の外部から反応室に収容された反応液へ反応室の接触面を介して光が透過し得る限り、反応容器本体の一部のみが光透過性材料で構成されていてもよいし、反応容器本体の全体が光透過性材料で構成されていてもよい。

本態様に係る反応容器においては、反応液を反応室に収容した状態のままで、反応液への励起光の照射及び反応液から発せられる蛍光の検出を、反応容器の外部から行なうことができる。したがって、反応液中に反応の進行状況の指標となり得る蛍光体を添加しておけば、反応進行中に当該蛍光体が発する蛍光を検出することによって、反応の進行状況をリアルタイムで（すなわち反応進行中に即座に）モニタリングすることができる。

反応の進行状況の指標となり得る蛍光体は、反応室内で生じさせる反応の種類に応じて適宜選択することができる。例えば、反応室内で生じさせる反応がPCRである場合には、反応液中の核酸（例えばDNA）量によって蛍光強度や蛍光波長などの蛍光特性を変化させる蛍光体を用いることができる。具体的には、2本鎖DNAにインターカレートすることによって、蛍光強度や蛍光波長などの特性を変化させる蛍光色素を用いることができる。測定の容易さの点からは、インターカレーションにより蛍光強度が増加する性質を有する蛍光色素が好ましい。このような蛍光色素の具体例としては、エチジウムブロマイド（EtBr）、SYBR Green I、PicoGreen、チアゾールオレンジ、オキサゾールイエローなどが挙げられる。例えば、DNAにインターカレートしたエチジウムブロマイドは、DNAが吸収した紫外線（260 nm）のエネルギー転移又は自身の吸収光により励起され、蛍光を発する。また、DNAにインターカレートしたSYBR Green Iは、260 nm前後の紫外線又は470 nm前後の可視光で励起されて緑色の蛍光を発する。これらの蛍光色素が発する蛍光強度は2本鎖DNA量に比例するので、蛍光色素の蛍光強度を測定することにより、反応室内におけるPCRの進行状況（例えば、PCRによる標的核酸の増幅の有無、PCR増幅産物の量など）をリアルタイムで（すなわちPCRの反応進行中

に即座に) モニタリングすることができる。

また、PCRの進行状況の指標となり得る蛍光体として、標的配列の中間部分と相補的なオリゴヌクレオチドプローブにリポーターとクエンチャーという2種類の蛍光色素を結合させたものを用いることができる。リポーターは励起光を照射すると蛍光を発する分子であるが、リポーターの近傍にクエンチャーが存在するオリゴヌクレオチドプローブの場合には、リポーターが吸収したエネルギーはクエンチャーに吸収され、リポーターは励起されず、本来ならば生じるはずの蛍光が生じないことになる(クエンチング)。クエンチングを起しているオリゴヌクレオチドプローブを反応室に収容されたPCR反応液に添加すると、標的配列に結合する。その後、Tagポリメラーゼによってプライマーの3'末端から伸長鎖が合成されるが、その途中でプローブにぶつかると、5'→3'エンドヌクレアーゼ活性により既にアニーリングしているプローブが分解され、隣接していたリポーターとクエンチャーとが分離し、クエンチャーの抑制を受けていたリポーターが蛍光を発するようになる。この反応はPCRのサイクルにほぼ比例して起こるので、リポーターの蛍光強度を測定することにより、反応室内におけるPCRの進行状況をリアルタイムでモニタリングすることができる。

また、PCRの進行状況の指標となり得る蛍光体として、標的核酸に隣接してハイブリダイズする2種類のオリゴヌクレオチドプローブに蛍光色素を結合させたものを用いることができる。5'側のプローブの3'末端にはドナー色素が、3'側のプローブの5'末端にはアクセプター色素が結合しており、2種類のプローブが標的核酸に隣接してハイブリダイズすると、ドナー色素は外部光源の励起光によって蛍光を発し、その光はアクセプター色素に吸収され、そのときアクセプター色素は異なった波長光を放出する。PCR増幅産物が増加するのに伴って、標的核

酸にハイブリダイズするプローブ量も増加するので、蛍光強度を測定することにより、反応室内におけるPCRの進行状況をリアルタイムでモニタリングすることができる。

(3) 本発明の反応容器の第二態様においては、前記蓋材の接触面の一部又は全体が平面である。

本態様に係る反応容器においては、反応液への励起光の照射又は反応液から発せられる蛍光の検出を、平面である蓋材の接触面の一部又は全体を介して行なうことができ、これにより励起光の照射条件や蛍光の受光条件の設定が容易となる。

(4) 本発明の反応容器の第三態様においては、前記蓋材の接触面が、前記蓋材を構成する厚みの略均一な壁部の面である。

本態様に係る反応容器においては、反応室に収容された反応液の温度制御を、蓋材の接触面を有する厚みが略均一な壁部（例えば板状）を介して行なうことができ、これにより反応液の温度制御を迅速かつ効率的に行なうことができる。また、そのときの温度制御条件の設定も容易である。また、反応室に収容された反応液への励起光の照射又は反応液からの蛍光の検出を、蓋材の接触面を有する厚みが略均一な壁部を介して行なうことができ、これにより励起光の照射条件や蛍光の受光条件の設定が容易となる。特に、蓋材の接触面の一部又は全体が平面である場合には、当該壁部は平板状となり、当該壁部における蓋材の接触面及びそれと反対側の面が略平行となるので、励起光の照射条件や蛍光の受光条件の設定がより容易となる。

(5) 本発明の反応容器の第四態様においては、前記反応室の接触面の

一部又は全体が平面である。

本態様に係る反応容器においては、反応液への励起光の照射又は反応液からの蛍光の検出を、平面である反応室の接触面の一部又は全体を介して行なうことができ、これにより励起光の照射条件や蛍光の受光条件の設定が容易となる。

(6) 本発明の反応容器の第五態様においては、前記反応室の接触面が、前記反応容器本体を構成する厚みの略均一な壁部の面である。

本態様に係る反応容器においては、反応室に収容された反応液の温度制御を、反応室の接触面を有する厚みが略均一な壁部（例えば板状）を介して行なうことができ、これにより反応液の温度制御を迅速かつ効率的に行なうことができる。また、そのときの温度制御条件の設定も容易である。また、反応室に収容された反応液への励起光の照射又は反応液からの蛍光の検出を、反応室の接触面を有する厚みが略均一な壁部を介して行なうことができ、これにより励起光の照射条件や蛍光の受光条件の設定が容易となる。特に、反応室の接触面の一部又は全体が平面である場合には、当該壁部は平板状となり、当該壁部における反応室の接触面及びそれと反対側の面が略平行となるので、励起光の照射条件や蛍光の受光条件の設定がより容易となる。

(7) 本発明の反応容器の第六態様においては、前記蓋材が前記反応容器本体に被着されると、前記蓋材の接触面と前記反応室の接触面とによって密閉空間が形成され、前記密閉空間に前記反応液の一部又は全部が収容される。

本態様に係る反応容器においては、蓋材が反応容器本体に被着されると、蓋材の接触面の端部と反応室の接触面の端部とが密着し、密閉空間

が形成される。この密閉空間に反応液の一部が収容されるか全部が収容されるかは、反応室に収容される反応液の容量、形成される密閉空間の容積などに応じて決まる。

本態様に係る反応容器においては、密閉空間に収容された反応液の外表面は、その全体（又はほとんど全体）が蓋材及び反応室との接触面となるので、蓋材の接触面及び／又は反応室の接触面を介した反応液の温度制御を迅速に行なうことができる。

また、密閉空間には空気等の気体が存在しない（又はほとんど存在しない）ので、密閉空間内で目的の反応を進行させる際に気体への反応液の蒸発を抑制することができ、これにより反応室に収容された反応液の量が微量であっても反応を進行させることができる。

（８）本発明の反応容器の第七態様においては、前記蓋材が前記反応容器本体に被着されると、前記密閉空間に収容され得ない前記反応液の残部を収容し得る反応液残部収容部が、前記反応室内に形成される。

本態様に係る反応容器においては、密閉空間に収容され得る容量よりも多い容量の反応液を反応室に収容しておき、蓋材（例えば蓋材に設けられた凸部）で反応液を押圧することによって、密閉空間に収容され得ない反応液とともに、反応室内の空気や反応液中の泡などが反応液残部収容部に押し出され、これによって密閉空間内に収容される反応液中に泡や空気が入ることを防止することができる。また、密閉空間には一定量の反応液が収容されるので、反応室に収容された反応液の容量に関わらず、一定量の反応液について反応を進行させることができ、これにより反応液を精密に計量して反応室に収容する労力を軽減することができる。

本態様に係る反応容器においては、反応液残部収容部は例えば次のよ



うにして反応室内に形成される。蓋材を反応容器本体に被着したときに、蓋材の凸部の外周面と反応室の内周面とが完全に密着せずに、蓋材の凸部の外周面と反応室の内周面との間に空間が形成されるとき、この空間が反応液残部収容部となる。

(9) 本発明の反応容器の第八態様においては、前記反応室が、前記蓋材の接触面と対向する対向面を有しており、前記蓋材が前記反応容器本体に被着されると、前記反応室に収容された反応液の一部又は全体が、前記蓋材の接触面と前記反応室の対向面との間に薄状となって収容される。

本発明において、反応室の接触面のうち、蓋材の接触面と対向する面を「反応室の対向面」という。反応室の対向面は、例えば、蓋材の接触面が平面であれば、それに対向するように平面とし、蓋材の接触面が曲面であれば、それに対向するように曲面とすることが好ましい。

本態様に係る反応容器においては、蓋材の接触面と反応室の対向面との間に薄状となって収容された反応液における反応をモニタリングする。この際、薄状となって存在する反応液は、反応液の容積に対する表面積の割合が大きいため、反応室の接触面及び／又は蓋材の接触面を介した熱移動によって、反応液の温度制御を迅速に行なうことができる。また、反応液が薄状であると、反応液全体に対して温度制御を均一に行なうことができる。

(10) 本発明の反応容器の第九態様においては、前記反応室の対向面が、前記反応容器本体を構成する厚みの略均一な壁部の面である。

本態様に係る反応容器においては、反応室に収容された反応液の温度制御を、反応室の対向面を有する厚みが略均一な壁部（例えば板状）を

介して行なうことができ、これにより反応液の温度制御を迅速かつ効率的に行なうことができる。また、そのときの温度制御条件の設定も容易である。また、反応室に収容された反応液への励起光の照射又は反応液からの蛍光の検出を、反応室の対向面を有する厚みが略均一な壁部を介して行なうことができ、これにより励起光の照射条件や蛍光の受光条件の設定が容易となる。特に、反応室の対向面の一部又は全体が平面である場合には、当該壁部は平板状となり、当該壁部における反応室の対向面及びそれと反対側の面が略平行となるので、励起光の照射条件や蛍光の受光条件の設定がより容易となる。

(11) 本発明の反応容器の第十態様においては、前記反応容器の外部から前記反応室に収容された反応液へ、及び／又は前記反応室に収容された反応液から前記反応容器の外部へ、前記反応室の対向面を介して光が透過し得るように、前記反応室の対向面を有する前記壁部が光透過性材料で構成されている。

本態様に係る反応容器において、反応容器の外部から反応室に収容された反応液へ反応室の対向面を介して光が透過し得る場合には、反応容器の外部から反応室に収容された反応液へ、反応室の対向面を介して光を照射することができる。また、反応室に収容された反応液から反応容器の外部へ反応室の対向面を介して光が透過し得る場合には、反応室に収容された反応液から発せられる光（例えば蛍光や化学発光）を、反応室の対向面を介して反応容器の外部で検出することができる。したがって、反応のモニタリングの際に行なう反応液への光の照射及び／又は反応液から発せられる光の検出を、反応室の対向面を介して行なうことができる。

(12) 本発明の反応容器の第十一態様においては、前記反応容器本体が、前記蓋材と当接して前記蓋材の接触面と前記反応室の対向面との距離を規定する当接面を有する。

本態様に係る反応容器においては、蓋材の接触面と反応室の対向面との距離が一定に保たれることによって、蓋材の接触面と反応室の対向面との間に收容された反応液の厚みが一定に保たれるので、当該反応液全体に対して温度制御を均一に行なうことができる。また、蓋材の接触面と反応室の対向面との距離を調節することによって、反応液の厚みを調節することができる。

本態様に係る反応容器において、反応容器本体は、反応室内に当接面を有していてもよいし、反応室外に当接面を有していてもよい。例えば、当接面は反応室の内周面に沿って設けることができる。この場合、蓋材が反応容器本体に被着されると、蓋材は反応室の内周面の周囲と密着して反応室内は密閉される。

(13) 本発明の反応容器の第十二態様においては、前記反応室が、前記蓋材の接触面と前記反応室の対向面との間に存在する前記反応液を包囲する包囲面を有しており、前記蓋材が前記反応容器本体に被着されると、前記蓋材の接触面と前記反応室の対向面と前記反応室の包囲面とによって密閉空間が形成され、前記反応液の一部又は全体が前記密閉空間に薄状となって收容される。

本発明において、反応室の接触面のうち、蓋材の接触面と反応室の対向面との間に存在する反応液を包囲する面が「反応室の包囲面」である。反応室の包囲面の形状は、蓋材の接触面及び反応室の対向面の形状によって決定され、例えば、蓋材の接触面及び反応室の対向面が円形状のとき、反応室の包囲面は円筒状となり、蓋材の接触面及び反応室の対向面

が矩形状のとき、反応室の包囲面は角筒状となる。包囲面の横断面の形状は、円形状、矩形状（正方形及び長方形のいずれをも含む。）、半円半形状、平行四辺形状など任意の形状とすることができる。

本態様に係る反応容器において、反応室の対向面の端部と反応室の包囲面の端部（通常は下端部）とは連続しており、蓋材が反応容器本体に被着されると、蓋材の接触面の端部と反応室の包囲面の端部（通常は上端部）とが密着する。これによって、蓋材の接触面と反応室の対向面と反応室の包囲面とによって密閉空間が形成される。

本態様に係る反応容器においては、密閉空間に薄状となって収容された反応液における反応をモニタリングする。この際、薄状となって存在する反応液は、反応液の容積に対する表面積の割合が大きいため、反応室の接触面及び／又は蓋材の接触面を介した熱移動によって、反応液の温度制御を迅速に行なうことができる。また、反応液が薄状であるとき、反応液の厚みは略均一であるので、反応液全体に対して温度制御を均一に行なうことができる。さらに、密閉空間には空気等の気体が存在しない（又はほとんど存在しない）ので、密閉空間内で目的の反応を進行させる際に気体への反応液の蒸発を抑制することができ、これにより反応室に収容された反応液の量が微量であっても反応を進行させることができる。

（１４）本発明の反応容器の第十三態様においては、前記反応室の包囲面の一部又は全体が平面である。

本態様に係る反応容器においては、反応液への励起光の照射又は反応液からの蛍光の検出を、平面である反応室の包囲面の一部又は全体を介して行なうことができ、これにより励起光の照射条件や蛍光の受光条件の設定が容易となる。

(15) 本発明の反応容器の第十四態様においては、前記反応室の包囲面の横断面が矩形状である。

本態様に係る反応容器においては、反応室の包囲面は、4つの平面から構成され、対向する2つの面は平行である。したがって、光が直進する特性を利用することによって、反応室の包囲面を構成する1つの平面を介して、反応液の全体に対して光を照射するとともに、反応液の全体から発せられる光を検出することが可能である。また、そのときの励起光の照射条件や蛍光の受光条件の設定も容易である。

(16) 本発明の反応容器の第十五態様においては、前記反応室の包囲面が、前記反応容器本体を構成する厚みの略均一な壁部の面である。

本態様に係る反応容器においては、反応室に収容された反応液の温度制御を、反応室の包囲面を有する厚みが略均一な壁部（例えば板状）を介して行なうことができ、これにより反応液の温度制御を迅速かつ効率的に行なうことができる。また、そのときの温度制御条件の設定も容易である。また、反応室に収容された反応液への励起光の照射又は反応液からの蛍光の検出を、反応室の包囲面を有する厚みが略均一な壁部の面を介して行なうことができ、これにより励起光の照射条件や蛍光の受光条件の設定が容易となる。特に、反応室の包囲面の一部又は全体が平面である場合には、当該壁部は平板状となり、当該壁部における反応室の包囲面及びそれと反対側の面が略平行となるので、励起光の照射条件や蛍光の受光条件の設定がより容易となる。

(17) 本発明の反応容器の第十六態様においては、前記反応容器の外部から前記反応室に収容された反応液へ、及び／又は前記反応室に収容

された反応液から前記反応容器の外部へ、前記反応室の包囲面を介して光が透過し得るように、前記反応室の包囲面を有する前記壁部が光透過性材料で構成されている。

本態様に係る反応容器において、反応容器の外部から反応室に收容された反応液へ反応室の包囲面を介して光が透過し得る場合には、反応容器の外部から反応室に收容された反応液へ、反応室の包囲面を介して光を照射することができる。また、反応室に收容された反応液から反応容器の外部へ反応室の包囲面を介して光が透過し得る場合には、反応室に收容された反応液から発せられる光（例えば蛍光や化学発光）を、反応室の包囲面を介して反応容器の外部で検出することができる。したがって、反応のモニタリングの際に行なう反応液への光の照射及び／又は反応液から発せられる光の検出を、反応室の包囲面を介して行なうことができる。

本態様に係る反応容器においては、反応室に收容された反応液の温度制御を、蓋材の接触面及び／又は反応室の対向面を介した熱移動によって行なうとともに、反応のモニタリングの際に行なう反応液への光の照射及び／又は反応液から発せられる光の検出を、反応室の包囲面を介して行なうことができる。このように、反応液の温度制御に利用する面と、反応の進行状況のモニタリングに利用する面とを別個のものとすることによって、反応液の温度制御を迅速に行なうことができるとともに、反応の進行状況をモニタリングする領域を自由に設定することができる。反応液全体における反応の進行状況をモニタリングすることも可能である。

（１８）本発明の反応容器の第十七態様においては、第六態様に係る反応容器の蓋材に、液体を吸引及び吐出し得るノズルに装着されたノズル

チップを嵌装し得るノズルチップ嵌装空間が形成されているとともに、前記蓋材が前記反応容器本体に被着された状態において、前記ノズルチップ嵌装空間に前記ノズルチップを嵌装し得るように、前記ノズルチップ嵌装空間に通じるノズルチップ嵌装口が形成されており、前記蓋材が前記反応容器本体に被着された状態において、前記反応容器の外部に設けられた穿孔針により、前記反応容器の外部と前記密閉空間と前記ノズルチップ嵌装空間とを連通させる貫通孔を前記反応容器本体及び前記蓋材に形成し得る。

本態様に係る反応容器を利用して目的の反応を行なう際、反応液の一部又は全体を、蓋材の接触面と反応室の接触面とによって形成される密閉空間に収容し、目的の反応を生じさせる。

反応前又は反応後、蓋材が反応容器本体に被着された状態にある反応容器のノズルチップ嵌装空間に、ノズルに装着されたノズルチップをノズルチップ嵌装口から嵌装する。ノズルチップ嵌装空間に嵌装されるノズルチップは、ノズルによる吸引力（減圧）及び吐出力（加圧）をノズルチップの外部に伝達できる媒介部材であり、例えば、ノズル装着口が一端に形成されており、ノズル装着口に通じる吸引吐出口が他端に形成されているノズルチップを使用できる。このようなノズルチップを使用する場合、例えば、ノズルチップの吸引吐出口がノズルチップ嵌装空間に通じるように、ノズルチップ嵌装空間にノズルチップを嵌装する。このとき、ノズルチップ嵌装空間内におけるノズルチップの吸引吐出口の位置は、例えば、蓋材とノズルチップの当接部とが当接することにより規定される。

ノズルチップ嵌装空間へのノズルチップの嵌装前又は嵌装後に、反応容器の外部に設けられた穿孔針により、反応容器の外部と反応液が収容された密閉空間とノズルチップ嵌装空間とを連通させる貫通孔を反応容

器本体及び蓋材に形成する。穿孔針は、まず反応容器本体を穿孔して、反応容器の外部と反応液が収容された密閉空間とを連通させる貫通孔を形成し、次いで蓋材を穿孔して、反応液が収容された密閉空間とノズルチップ嵌装空間とを連通させる貫通孔を形成する。ノズルチップの嵌装及び穿孔針による穿孔が完了した反応容器においては、反応容器の外部と反応液が収容された密閉空間とが反応容器本体に形成された貫通孔を通じて連通しており、反応液が収容された密閉空間とノズルチップ嵌装空間とが蓋材に形成された貫通孔を通じて連通しており、ノズルチップ嵌装空間がノズルチップの吸引吐出口に通じているので、ノズルによる吸引力及び吐出力を反応容器の外部に伝達できるようになっている。したがって、反応容器を液体に浸漬して反応容器本体に形成された貫通孔を当該液体に浸漬し、ノズルによる吸引及び吐出を開始すると、上記液体は、ノズルによる吸引に伴って反応液が収容された密閉空間へ流入するとともに、ノズルによる吐出に伴って当該密閉空間から流出する。ノズルによる吸引及び吐出を繰り返すことにより、反応容器の密閉空間に収容された反応液は、上記液体中に抽出される。反応液の抽出に伴って、反応液に含まれる反応産物も上記液体中に抽出される。

このように、本態様に係る反応容器を利用すれば、蓋材を反応容器本体に被着した状態で反応を行なった後、蓋材を反応容器本体から脱着することなく、反応液に含まれる反応産物を取得できる。

なお、ノズルチップの吸引吐出口がノズルチップ嵌装空間を形成する蓋材の壁部と接触して封止されるように、ノズルチップ嵌装空間にノズルチップを嵌装してもよい。但し、ノズルチップの吸引吐出口を封止する蓋材の壁部が、反応液が収容された密閉空間との接触面を有することが必要となる。この場合には、ノズルチップ嵌装空間へのノズルチップの嵌装前又は嵌装後に、反応容器の外部に設けられた穿孔針により、反



応容器の外部と反応液が収容された密閉空間とノズルチップの吸引吐出口とを連通させる貫通孔を反応容器本体及び蓋材に形成する。反応液が収容された密閉空間とノズルチップの吸引吐出口とを連通させる貫通孔は、ノズルチップの吸引吐出口を封止する蓋材の壁部に形成される。ノズルチップの嵌装及び穿孔針による穿孔が完了した反応容器においては、反応容器の外部と反応液が収容された密閉空間とが反応容器本体に形成された貫通孔を通じて連通しており、反応液が収容された密閉空間とノズルチップの吸引吐出口とが蓋材に形成された貫通孔を通じて連通しているため、ノズルによる吸引力及び吐出力を反応容器の外部に伝達できるようになっている。したがって、上記と同様に、反応容器を液体に浸漬して反応容器本体に形成された貫通孔を当該液体に浸漬し、ノズルによる吸引及び吐出を繰り返すことにより、反応液に含まれる反応産物は、上記液体中に抽出される。

本態様に係る反応容器において、蓋材に形成されるノズルチップ嵌装空間及び該ノズルチップ嵌装空間に通じるノズルチップ嵌装口の形状及び大きさは、ノズルチップ嵌装空間に嵌装されるノズルの形状及び大きさに応じて適宜調節される。また、ノズルチップ嵌装口は、蓋材が反応容器本体に被着された状態において、ノズルチップ嵌装口からノズルチップ嵌装空間にノズルチップを嵌装し得る位置に形成される。

本態様に係る反応容器において、反応容器本体及び蓋材の材質は、反応液によって腐食されず、反応条件（例えば、反応温度）に耐え得る材料であって、かつ反応容器の外部に設けられた穿孔針により反応容器本体及び蓋材を穿孔し得る材料が選択される。穿孔針がステンレススチール等の金属から構成されている場合には、反応容器本体及び蓋材の材質として、例えば、プラスチック、ガラス等を選択できる。

本態様に係る反応容器において、反応液が収容された密閉空間とノズ

ルチップ嵌装空間との相対位置は、反応容器の外部に設けられた穿孔針により、反応容器の外部と反応液が収容された密閉空間とノズルチップ嵌装空間とを連通させる貫通孔を前記反応容器本体及び前記蓋材に形成し得るように調節される。

本態様に係る反応容器の外部に設けられる穿孔針の形状は、蓋材及び反応容器本体を穿孔し得る限り特に限定されるものではなく、穿孔針の形状としては、例えば、先端部が尖形状となっている形状、具体的には、円錐形状、角錐形状、針状等が挙げられる。ここで、「尖形状」とは、先端に向かって細くなっている形状を意味し、先端が鋭くなっている形状の他、先端が丸みを帯びた形状、先端が平面となっている形状等も含まれる。穿孔針の材質は、蓋材及び反応容器本体を穿孔し得るように、これらの材質に応じて適宜決定されるが、通常はステンレススチール等の金属である。穿孔に利用される穿孔針の本数は特に限定されるものではない。穿孔針の長さは目的の貫通孔を形成し得るように適宜調節される。

(19) 本発明の反応容器の第十八態様においては、第十二態様に係る反応容器の蓋材に、液体を吸引及び吐出し得るノズルに装着されたノズルチップを嵌装し得るノズルチップ嵌装空間が形成されているとともに、前記蓋材が前記反応容器本体に被着された状態において、前記ノズルチップ嵌装空間に前記ノズルチップを嵌装し得るように、前記ノズルチップ嵌装空間に通じるノズルチップ嵌装口が形成されており、前記蓋材が前記反応容器本体に被着された状態において、前記反応容器の外部に設けられた穿孔針により、前記反応容器の外部と前密閉空間と前記ノズルチップ嵌装空間とを連通させる貫通孔を前記反応容器本体及び前記蓋材に形成し得る。

本態様に係る反応容器を利用して目的の反応を行なう際、反応液の一

部又は全体を、蓋材の接触面と反応室の対向面と反応室の包囲面とによって形成される密閉空間に収容し、目的の反応を生じさせる。

本態様に係る反応容器を利用すれば、第十七態様に係る反応容器と同様に、蓋材を反応容器本体に被着した状態で反応を行なった後、蓋材を反応容器本体から脱着することなく、反応液に含まれる反応産物を取得できる。

(20) 本発明の反応容器の第十九態様においては、前記ノズルチップ嵌装口が封止されると前記ノズルチップ嵌装空間が密閉されるように、前記ノズルチップ嵌装空間が形成されている。

本態様に係る反応容器においては、ノズルチップ嵌装空間にノズルチップを嵌装することにより、ノズルチップ嵌装空間が密閉されるので、ノズルによる吸引力及び吐出力をノズルチップ嵌装空間に効率よく伝達できる。ここで、「密閉」とは、ノズルによる吸引力（減圧）及び吐出力（加圧）をノズルチップ嵌装空間に伝達する上で妨げとなる間隙、細孔等が存在していない状態を意味し、ノズルチップ嵌装空間がノズルチップの吸引吐出口と通じている状態は「密閉」に含まれる。また、ノズルによる吸引力（減圧）及び吐出力（加圧）をノズルチップ嵌装空間に伝達する上で支障を来たさない程度の間隙、細孔等が存在する状態も「密閉」に含まれる。

(21) 本発明の反応容器の第二十態様においては、前記ノズルチップ嵌装空間を形成する前記蓋材の壁部が、前記ノズルチップの外周面と密着し得る内周面を有する。

本態様に係る反応容器においては、ノズルチップ嵌装空間にノズルチップを嵌装すると、ノズルチップ嵌装空間を形成する蓋材の壁部の内周

面とノズルチップの外周面とが密着して、ノズルチップ嵌装空間が密閉される。

(22) 本発明の反応容器の第二十一態様においては、前記ノズルチップの外周面と密着し得る前記蓋材の壁部の内周面に、前記ノズルチップの外周面に設けられた凹部及び／又は凸部と嵌合し得る凸部及び／又は凹部が設けられている。

本態様に係る反応容器においては、ノズルチップ嵌装空間へのノズルチップの嵌装状態が強固なものとなり、ノズルチップ嵌装空間に嵌装されたノズルチップにノズルチップ嵌装空間への嵌装方向と逆方向の力が加えられたても、ノズルチップがノズルチップ嵌装空間から脱着することはない。したがって、ノズルチップ嵌装空間に嵌装されたノズルチップが装着されているノズルの移送によって、蓋材が反応容器本体に被着された状態にある反応容器を移送することが可能となる。

(23) 本発明の反応容器の第二十二態様においては、前記蓋材の接触面が、前記ノズルチップ嵌装空間を形成する前記蓋材の壁部の面である。

本態様に係る反応容器においては、ノズルチップ嵌装空間を形成する蓋材の壁部であって反応液との接触面を有する蓋材の壁部に、反応液が収容された密閉空間とノズルチップ嵌装空間とを連通させる貫通孔を形成できる。また、当該蓋材の壁部は、反応液が収容された密閉空間を形成する反応容器本体の壁部のいずれかの部分と対向するので、反応容器の外部に設けられた1本の穿孔針により、反応容器の外部と反応液が収容された密閉空間とノズルチップ嵌装空間とを連通させる貫通孔を反応容器本体及び蓋材に形成できる。

(24) 本発明の反応容器の第二十三態様においては、前記蓋材の接触面が、前記ノズルチップ嵌装空間の最深部を形成する前記蓋材の壁部の面である。

ここで、「ノズルチップ嵌装空間の最深部」とは、ノズルチップ嵌装空間のうちノズルチップ嵌装口から最も離反した部分を意味し、本態様に係る反応容器において、ノズルチップは、ノズルチップ嵌装口からノズルチップ嵌装空間の最深部に向けて嵌装される。

(25) 本発明の反応容器の第二十四態様においては、前記ノズルチップ嵌装空間の最深部を形成する前記蓋材の壁部が、前記密閉空間の最深部を形成する前記反応容器本体の壁部と対向するように設けられている。

ここで、「密閉空間の最深部」とは、反応液が収容される密閉空間のうち、反応容器が載置される面に最も近接した部分を意味する。本態様に係る反応容器においては、反応容器が載置される面に垂直又は略垂直に設けられた穿孔針により、反応容器の外部と反応液が収容された密閉空間とノズルチップ嵌装空間とを連通させる貫通孔を反応容器本体及び蓋材に形成できる。

(26) 本発明の反応容器の第二十五態様においては、前記ノズルチップ嵌装空間への前記ノズルチップの嵌装方向が、前記反応容器が載置される面に対して垂直又は略垂直となるように、前記ノズルチップ嵌装空間が形成されている。

本態様に係る反応容器において、ノズルチップをノズルチップ嵌装空間に嵌装する際に反応容器がノズルチップから受ける力は、反応容器が載置される面に対して垂直又は略垂直な方向への力である。したがって、ノズルチップをノズルチップ嵌装空間に嵌装する際に反応容器がずれる

ことはなく、ノズルチップをノズルチップ嵌装空間に容易に嵌装できる。

(27) 本発明の反応容器の第二十六態様においては、前記蓋材が、前記反応室の内周面と密着し得る外周面を有する。

本態様に係る反応容器においては、蓋材の外周面と反応室の内周面とが密着することにより、反応液が収容された密閉空間の密閉性がより確実なものとなる。したがって、ノズルによる吸引力及び吐出力を反応容器の外部に効率よく伝達できる。

(28) 本発明の反応容器の第二十七態様においては、前記反応室の内周面に凹部及び／又は凸部が設けられており、前記蓋材の外周面に、前記反応室の内周面に設けられた凹部及び／又は凸部と嵌合し得る凸部及び／又は凹部が設けられている。

本態様に係る反応容器においては、蓋材の反応容器本体への被着状態が強固なものとなり、蓋材が反応容器本体に被着された状態にある反応容器を移送しても（例えば、反応容器本体を支持することなく蓋材を保持して移送しても）、蓋材が反応容器本体から脱着することはない。したがって、ノズルチップ嵌装空間に嵌装されたノズルチップが装着されているノズルの移送によって、蓋材が反応容器本体に被着された状態にある反応容器を移送することが可能となる。

(29) 本発明の反応容器の第二十八態様においては、前記反応容器はPCR用反応容器である。

本態様に係る反応容器において、反応室内で生じさせる反応はPCRであり、反応室に収容する反応液はPCR用反応液である。PCR用反応液には、例えば、 $H_2O$ 、バッファー、 $MgCl_2$ 、dNTPミックス、

プライマー、鋳型DNA、Taqポリメラーゼ等が含まれ、反応後のPCR用反応液には、反応産物としてPCR増幅断片（例えばDNA断片）が含まれる。

PCRは、反応液の温度を経時的又は周期的に制御する必要があるが、本発明の反応容器は反応液の温度を迅速に制御することができるので、本発明の反応容器をPCR用反応容器として使用することにより、PCRに要する時間を短縮することができる。また、PCRは、非常に微量の鋳型DNAを増幅する技術であるため、他のDNAのコンタミネーションが深刻な問題となるが、本発明の反応容器は反応液へのコンタミネーションを防止することができるので、本発明の反応容器をPCR用反応容器として使用することにより、目的とするPCRを正確に行なうことができる。さらに、本発明の反応容器は反応室に収容された反応液の蒸発を抑制することができるので、本発明の反応容器をPCR用反応容器として使用することにより、PCR用反応液が微量であってもPCRを進行させることが可能である。さらに、本発明の反応容器をPCR用反応容器として使用することにより、PCRの進行状況をリアルタイムでモニタリングすることができる。

本態様に係る反応容器を利用すれば、標的核酸を含む試料の調製（例えば、細胞からの核酸の抽出など）、PCRによる標的核酸の増幅、PCRの進行状況（例えば、標的核酸の増幅の有無、PCR増幅産物の量など）のモニタリング（例えば、検出、測定、定性分析、定量分析など）、PCR増幅産物の取得といった一連の作業を自動化できる。

（30）上記目的を達成するために、本発明の第一の反応装置は、第一態様に係る反応容器と温度制御装置と光源と蛍光検出器とを備えた反応装置であって、前記温度制御装置が、前記蓋材の接触面及び／又は前記

反応室の接触面を介して前記反応室に収容された反応液の温度を制御し得るように、前記蓋材及び／又は前記反応容器本体に取付けられており、前記光源が、前記反応室に収容された反応液へ前記蓋材の接触面及び／又は前記反応室の接触面を介して光を照射し得るように設けられており、前記蛍光検出器が、前記反応室に収容された反応液から発せられる蛍光を前記蓋材の接触面及び／又は前記反応室の接触面を介して検出し得るように設けられていることを特徴とする。

本発明の第一の反応装置においては、温度制御装置が蓋材及び／又は反応容器本体に取付けられており、蓋材の接触面及び／又は反応室の接触面を介した熱移動によって反応液の温度制御を迅速に行なうことができる。温度制御装置は蓋材及び／又は反応容器本体に直接取付けられていてもよいし、他の部材を介して取付けられていてもよい。例えば、本発明の反応容器において、反応容器本体及び／又は蓋材と接触するように熱伝導性金属ブロック又は熱伝導性金属板が設けられている場合には、熱伝導性金属ブロック又は熱伝導性金属板を介して温度制御装置を蓋材及び／又は反応容器本体に取付けることができる。本発明の第一の反応装置において、温度制御装置は、蓋材及び反応容器本体のいずれか一方のみに取付けてもよいが、反応液の温度制御を迅速に行なう点からは蓋材及び反応容器本体の両方に取付けることが好ましい。

本発明の第一の反応装置において、光源は、反応室に収容された反応液へ蓋材の接触面及び／又は反応室の接触面を介して励起光を照射することができる。

また、本発明の第一の反応装置において、蛍光検出器は、反応室に収容された反応液から発せられる蛍光を蓋材の接触面及び／又は反応室の接触面を介して検出することができる。

本発明の第一の反応装置においては、蓋材の接触面及び反応室の接触



面を任意に組み合わせて、反応液への励起光の照射及び反応液から発せられる蛍光の検出を行なうことができる。すなわち、反応液への励起光の照射及び反応液から発せられる蛍光の検出を、ともに蓋材の接触面を介して行なってもよいし、ともに反応室の接触面を介して行なってもよいし、それぞれ蓋材の接触面及び反応室の接触面を介して行なってもよいし、それぞれ反応室の接触面及び蓋材の接触面を介して行なってもよい。

本発明の第一の反応装置においては、反応液を反応室に収容した状態のままで、反応液に励起光を照射し、反応液から発せられる蛍光を検出することができる。したがって、反応液中に反応の進行状況の指標となり得る蛍光体を添加しておけば、反応進行中に当該蛍光体が発する蛍光を検出することによって、反応の進行状況をモニタリングすることができる。特に本発明の第一の反応装置においては、反応室に収容された反応液の温度を迅速に制御して反応を進行させつつ、反応室で生じている反応の進行状況をリアルタイムで（すなわち反応進行中に即座に）モニタリングすることができる。

（３１）本発明の第一の反応装置の第一態様においては、前記温度制御装置が、前記蓋材を構成する厚みの略均一な壁部であって前記蓋材の接触面を有する壁部、及び／又は前記反応容器本体を構成する厚みの略均一な壁部であって前記反応室の接触面を有する壁部に取付けられている。

本態様に係る第一の反応装置においては、反応室に収容された反応液の温度制御を、蓋材の接触面を有する厚みが略均一な壁部及び／又は反応室の接触面を有する厚みが略均一な壁部を介して行なうことができ、これにより反応液の温度制御を迅速かつ効率的に行なうことができる。また、そのときの温度制御条件の設定も容易である。

また、反応室に収容された反応液への励起光の照射又は反応液からの蛍光の検出を、蓋材の接触面を有する厚みが略均一な壁部及び／又は反応室の接触面を有する厚みが略均一な壁部を介して行なうことができ、これにより励起光の照射条件や蛍光の受光条件の設定が容易となる。特に、蓋材の接触面又は反応室の接触面の一部又は全体が平面である場合には、当該壁部は平板状となり、当該壁部における蓋材の接触面及びそれと反対側の面、又は反応室の接触面とそれと反対側の面が略平行となるので、励起光の照射条件や蛍光の受光条件の設定がより容易となる。

本態様に係る第一の反応装置において、温度制御装置は上記壁部に直接取り付けられていてもよいし、他の部材を介して取り付けられていてもよい。例えば、上記壁部と接触するように熱伝導性金属ブロック又は熱伝導性金属板が設けられている場合には、熱伝導性金属ブロック又は熱伝導性金属板を介して温度制御装置を取付けることができる。

(32) 本発明の第一の反応装置の第二態様においては、前記反応容器が第十二態様に係る反応容器であり、前記温度制御装置が、前記蓋材の接触面及び／又は前記反応室の対向面を介して前記反応室に収容された反応液の温度を制御し得るように、前記蓋材及び／又は前記反応容器本体に取付けられており、前記光源が、前記反応室に収容された反応液へ前記反応室の包囲面を介して光を照射し得るように設けられており、前記蛍光検出器が、前記反応室に収容された反応液から発せられる蛍光を前記反応室の包囲面を介して検出し得るように設けられている。

本態様に係る第一の反応装置においては、蓋材の接触面及び／又は反応室の対向面を介した熱移動によって、反応室に収容された反応液を迅速に温度制御しながら、反応室の包囲面を介した反応液への励起光の照射及び反応液から発せられる蛍光の検出によって、反応室で生じている

反応の進行状況をリアルタイムでモニタリングすることができる。特に本態様に係る第一の反応装置においては、反応液の温度制御に利用する面（蓋材の接触面及び／又は反応室の対向面）と、反応の進行状況のモニタリングに利用する面（反応室の包囲面）とが別であるので、反応の進行状況をモニタリングする領域を自由に設定でき、反応液全体における反応の進行状況をモニタリングすることも可能となる。

（３３）本発明の第一の反応装置の第三態様においては、前記温度制御装置が、前記蓋材を構成する厚みの略均一な壁部であって前記蓋材の接触面を有する壁部、及び／又は前記反応容器本体を構成する厚みの略均一な壁部であって前記反応室の対向面を有する壁部に取付けられている。

本態様に係る第一の反応装置においては、反応室に収容された反応液の温度制御を、蓋材の接触面を有する厚みが略均一な壁部及び／又は反応室の対向面を有する厚みが略均一な壁部を介して行なうことができ、これにより反応液の温度制御を迅速かつ効率的に行なうことができる。また、そのときの温度制御条件の設定も容易である。

また、反応室に収容された反応液への励起光の照射又は反応液からの蛍光の検出を、蓋材の接触面を有する厚みが略均一な壁部及び／又は反応室の対向面を有する厚みが略均一な壁部を介して行なうことができ、これにより励起光の照射条件や蛍光の受光条件の設定が容易となる。特に、蓋材の接触面又は反応室の対向面の一部又は全体が平面である場合には、当該壁部は平板状となり、当該壁部における蓋材の接触面及びそれと反対側の面、又は反応室の対向面とそれと反対側の面が略平行となるので、励起光の照射条件や蛍光の受光条件の設定がより容易となる。

本態様に係る第一の反応装置において、温度制御装置は上記壁部に直接取付けられていてもよいし、他の部材を介して取付けられていてもよ

い。例えば、上記壁部と接触するように熱伝導性金属ブロック又は熱伝導性金属板が設けられている場合には、熱伝導性金属ブロック又は熱伝導性金属板を介して温度制御装置を取付けることができる。

(34) 本発明の第一の反応装置の第四態様においては、前記反応室の包囲面の周囲に配置された複数の光ファイバーをさらに備え、前記光源から前記反応液への光の照射及び／又は前記反応液から発せられる蛍光の検出が前記光ファイバーを利用して行なわれる。

本態様に係る第一の反応装置において、光ファイバーは、例えば、蓋材を構成し反応室の包囲面を有する壁部の、反応室の包囲面と反対側の面の周囲に配置される。反応室の包囲の一部又は全体が平面であって、反応室の包囲面を有する壁部の厚みが略均一である場合には、当該壁部は平板状となり、当該壁部における反応室の包囲面とそれと反対側の面が略平行となるので、反応室の包囲面を有する壁部に対して光ファイバーを垂直に配置することによって、励起光の照射条件や蛍光の受光条件の設定が容易となる。

反応液への光の照射及び反応液からの蛍光の検出に複数の光ファイバーを使用する場合、各光ファイバーの照射面積は小さいので、照射光が反応液中を透過する距離が短いと、各光ファイバーによって励起される領域が小さくなり、その領域から発せられる蛍光強度は弱いものとなる。したがって、蓋材の接触面と反応室の対向面との間に薄状となって存在する反応液へ、蓋材の接触面及び／又は反応室の対向面を介して励起光の照射する際に光ファイバーを用いると、各光ファイバーによる検出感度は低いものとなる。

これに対して、蓋材の接触面と反応室の対向面との間に薄状となって存在する反応液へ、反応室の包囲面を介して励起光の照射すれば、各光

ファイバーの照射面積は小さくても、照射光が反応液中を透過する距離が長いので、各光ファイバーによって励起される領域が大きく、その領域から発せられる蛍光強度は強いものとなる。したがって、各光ファイバーによる検出感度は高いものとなる。

したがって、本態様に係る反応容器においては、蓋材の接触面と反応室の対向面との間に薄状となって存在する反応液における反応の進行状況を、光ファイバーを用いて感度よくモニタリングすることができる。

本態様に係る第一の反応装置において、一つの光ファイバーで、光源から反応液への光の照射及び反応液から発せられる蛍光の検出の両方を行なってもよいし、一方のみをおこなってもよい。また、光源から反応液への光の照射に利用される光ファイバー、及び反応液から発せられる蛍光の検出に利用される光ファイバーは、反応室の包囲面の周囲に任意に配置することができる。また、照射光の種類及び検出される蛍光の種類は、全ての光ファイバーで同一であってもよいし、各光ファイバーごと又は各光ファイバー群ごとに異なってもよい。

本態様に係る第一の反応装置において、反応室に収容される反応液中に異なる複数の蛍光色素を含有させておき、各蛍光色素に対応する励起光の照射及び各蛍光色素から発せられる蛍光の検出を、光ファイバーごと又は光ファイバー群ごとに行なうことによって、異なるPCRを同時に進行させ、それぞれの反応の進行状況（それぞれのPCRによる標的核酸の増幅の有無、それぞれのPCR増幅産物の量など）をリアルタイムでモニタリングすることができる。また、複数の光ファイバーによって同一の励起光を照射し、同一の蛍光を検出する場合には、光ファイバーを反応室の包囲面の周囲全体に配置することによって、反応液全体における反応の進行状況をモニタリングすることができる。

(35) 上記目的を達成するために、本発明の第二の反応装置は、第十七態様又は第十八態様に係る反応容器が設置される反応容器設置部と、第一の温度制御装置と、第二の温度制御装置と、光源と、蛍光検出器とを備えた反応装置であって、前記第一の温度制御装置が、前記反応容器設置部に設置された前記反応容器の前記密閉空間に收容された反応液の温度を、前記反応室の接触面を介して制御し得るように設けられており、前記第二の温度制御装置が、前記蓋材のノズルチップ嵌装空間に脱着可能に装着され、前記反応容器設置部に設置された前記反応容器の前記密閉空間に收容された反応液の温度を、前記蓋材の接触面を介して制御し得るように設けられており、前記光源が、前記反応容器設置部に設置された前記反応容器の前記密閉空間に收容された反応液へ、前記蓋材の接触面及び／又は前記反応室の接触面を介して光を照射し得るように設けられており、前記蛍光検出器が、前記反応容器設置部に設置された前記反応容器の前記密閉空間に收容された反応液から発せられる蛍光を、前記蓋材の接触面及び／又は前記反応室の接触面を介して検出し得るように設けられていることを特徴とする。

本発明の第二の反応装置においては、反応前の反応容器を反応容器設置部に設置し、反応容器内の密閉空間に收容された反応液の温度を、第一及び第二の温度制御装置によって制御する。第一及び第二の温度制御部は、例えば、反応容器本体又は蓋材と接触するように設けられた熱伝導性金属ブロック又は熱伝導性金属板を備え、第一の温度制御装置は、反応室の接触面を介して反応液の温度を制御し、第二の温度制御装置は、蓋材の接触面を介して反応液の温度を制御する。第二の温度制御装置は、蓋材のノズルチップ嵌装空間に対して装着及び脱着できるようになっており、反応時にはノズルチップ嵌装空間に装着され、反応後にはノズルチップ嵌装空間から脱着される。

本発明の第二の反応装置においては、光源から反応液へ蓋材の接触面及び／又は反応室の接触面を介して励起光を照射できるとともに、反応液から発せられる蛍光を蓋材の接触面及び／又は反応室の接触面を介して蛍光検出器により検出できる。これにより、反応液の温度を制御して目的の反応を進行させつつ、反応液中で生じている反応の進行状況をリアルタイムで（すなわち反応進行中に即座に）モニタリングすることができる。

（３６）本発明の第二の反応装置の第一態様においては、前記反応容器が第十八態様に係る反応容器であり、前記第一の温度制御装置が、前記反応容器設置部に設置された前記反応容器の前記密閉空間に収容された反応液の温度を、前記反応室の対向面を介して制御し得るように設けられており、前記光源が、前記反応容器設置部に設置された前記反応容器の前記密閉空間に収容された反応液へ、前記反応室の包囲面を介して光を照射し得るように設けられており、前記蛍光検出器が、前記反応容器設置部に設置された前記反応容器の前記密閉空間に収容された反応液から発せられる蛍光を、前記反応室の包囲面を介して検出し得るように設けられている。

本態様に係る第二の反応装置においては、蓋材の接触面及び反応室の対向面を介した熱移動によって、反応室に収容された反応液を迅速に温度制御しながら、反応室の包囲面を介した反応液への励起光の照射及び反応液から発せられる蛍光の検出によって、反応室で生じている反応の進行状況をリアルタイムでモニタリングすることができる。特に本態様に係る第二の反応装置においては、反応液の温度制御に利用する面（蓋材の接触面及び反応室の対向面）と、反応の進行状況のモニタリングに利用する面（反応室の包囲面）とが別であるので、反応の進行状況をモ

ニタリングする領域を自由に設定でき、反応液全体における反応の進行状況をモニタリングすることも可能となる。

(37) 本発明の第二の反応装置の第二態様においては、前記反応室の包囲面の周囲に配置された複数の光ファイバーをさらに備え、前記光源から前記反応液への光の照射及び／又は前記反応液から発せられる蛍光の検出が前記光ファイバーを利用して行なわれる。

本態様に係る第二の反応装置において、光ファイバーを利用した蛍光の検出は、第四態様に係る第一の反応装置と同様に行なうことができ、第四態様に係る第一の反応装置と同様の効果を得ることができる。

(38) 本発明の第二の反応装置の第三態様においては、前記第二の温度制御部を前記ノズルチップ嵌装空間に装着及び脱着させる温度制御部着脱部をさらに備え、前記温度制御部着脱部が、反応前において前記第二の温度制御装置を前記ノズルチップ嵌装空間に装着する動作と、反応後において前記第二の温度制御装置を前記ノズルチップ嵌装空間から脱着させる動作を行なう。

(39) 本発明の第二の反応装置の第四態様においては、穿孔用容器が設置される穿孔用容器設置部と、液体を吸引及び吐出し得るノズルと、ノズル移送部とをさらに備え、前記穿孔用容器が、液体を収容し得る液体収容空間と、前記液体収容空間に通じる開口部と、穿孔針とを備えており、前記液体収容空間が、前記開口部から前記液体収容空間に前記反応容器を収容できるように形成されており、前記穿孔針が、前記液体収容空間を形成する前記穿孔用容器の壁部から前記液体収容空間に突出するように設けられており、前記ノズル移送部が、前記反応容器設置部に



設置された前記反応容器の前記ノズルチップ嵌装空間に、前記ノズルに装着されたノズルチップを嵌装させる動作と、前記ノズルチップが嵌装された前記反応容器を、前記穿孔用容器設置部に移送する動作と、前記穿孔用容器設置部に設置された前記穿孔用容器の液体収容空間に前記反応容器を収容し、前記穿孔用容器に設けられた前記穿孔針により、前記穿孔用容器の液体収容空間と前記反応容器の前記密閉空間と前記ノズルチップ嵌装空間とを連通させる貫通孔を前記蓋材及び前記反応容器本体に形成させる動作とを行ない、前記ノズルが、前記貫通孔を介して前記穿孔用容器の液体収容空間に収容された液体を吸引及び吐出することにより、前記反応容器の前記密閉空間に収容された反応液を前記液体中に抽出する動作を行なう。

本態様に係る第二の反応装置においては、ノズル移送部によってノズルを移送し、反応容器設置部に設置されている反応後の反応容器のノズルチップ嵌装空間に、ノズルに装着されたノズルチップを嵌装させる。ノズルチップ嵌装空間へのノズルチップの嵌装後、ノズル移送部によってノズルを移送し、反応容器を反応容器設置部から穿孔容器設置部に移送する。次いで、ノズル移送部によってノズルを移送し、穿孔用容器設置部に設置された穿孔用容器の液体収容空間に反応容器を収容する。この際、反応容器を穿孔用容器に設けられた穿孔針に対して押圧し、当該穿孔針により目的の貫通孔（すなわち、穿孔用容器の液体収容空間と反応液が収容された密閉空間とノズルチップ嵌装空間とを連通させる貫通孔）を蓋材及び反応容器本体に形成させる。次いで、ノズルによる吸引及び吐出を開始させ、上記貫通孔を介して穿孔用容器の液体収容空間に収容された液体を吸引及び吐出する。ノズルによる吸引及び吐出を繰り返すことにより、反応容器の密閉空間に収容された反応液は、上記液体中に抽出される。反応液の抽出に伴って、反応液に含まれる反応産物も

上記液体中に抽出される。

このように、本態様に係る第二の反応装置を利用すれば、蓋材を反応容器本体に被着した状態で反応を行なった後、蓋材を反応容器本体から脱着することなく、反応容器内の反応液に含まれる反応産物を取得できる。

本態様に係る第二の反応装置において、ノズルは、液体を吸引及び吐出し得る限り、いかなる構造のものを使用してもよく、例えば、公知の分注装置で利用されるノズルと同様の構造を有するノズルを使用できる。また、ノズル移送部は、所定の動作を行なう限り、いかなる構造のものを使用してもよい。

なお、ノズルチップ嵌装空間にノズルチップを嵌装させる動作は、第二の温度制御装置をノズルチップ嵌装空間から脱着させる動作の後に行なわれる。また、ノズルチップ嵌装空間にノズルチップを嵌装させる動作と、第二の温度制御装置をノズルチップ嵌装空間から脱着させる動作とは干渉し合わないよう制御される。

(40) 本発明の第一及び第二の反応装置の第五態様においては、前記反応装置はPCR用反応装置である。

本態様に係る反応装置において、反応室内で生じさせる反応はPCRであり、反応室に収容する反応液はPCR用反応液である。本態様に係る反応装置においては、PCR用反応液の温度を迅速に制御してPCRを短時間で行ないつつ、PCRの進行状況（例えば、PCRによる標的核酸の増幅の有無、PCR増幅産物の量など）をリアルタイムでモニタリングすることができる。

本態様に係る反応装置は、標的核酸を含む試料の調製（例えば、細胞からの核酸の抽出など）、PCRによる標的核酸の増幅、PCRの進行状

況（例えば、標的核酸の増幅の有無、PCR増幅産物の量など）のモニタリング（例えば、検出、測定、定性分析、定量分析など）といった一連の作業の自動化を可能する。

（４１）上記目的を達成するために、本発明の方法は、反応室に収容された反応液を接触部材と接触させる工程（a）と、前記反応液と前記反応室との接触面及び／又は前記反応液と前記接触部材との接触面を介して前記反応液の温度を制御する工程（b）と、前記反応液と前記反応室との接触面及び／又は前記反応液と前記接触部材との接触面を介して前記反応液へ光を照射する工程（c）と、前記反応液と前記反応室との接触面及び／又は前記反応液と前記接触部材との接触面を介して前記反応液から発せられる蛍光を検出する工程（d）とを含む。

本発明の方法において、好ましくは工程（a）の後に工程（b）が行なわれる。これにより、反応液と反応室との接触面及び反応液と接触部材との接触面を介して反応液の温度を迅速に制御することができる。なお、工程（b）における反応液と反応室との接触面を介した反応液の温度制御は、工程（a）の前及び工程（a）と同時に行なうことができる。

また、本発明の方法において、好ましくは工程（a）の後に工程（c）及び工程（d）が行なわれる。これにより、反応液の温度を迅速に制御して反応を進行させながら、反応の進行状況をモニタリングすることができる。なお、工程（c）における反応液と反応室との接触面を介した反応液へ光の照射、及び工程（d）における反応液と反応室との接触面を介した反応液から発せられる蛍光の検出は、工程（a）の前及び工程（a）と同時に行なうことができる。

また、本発明の方法において、好ましくは工程（b）と工程（c）と工程（d）とは同時に行なわれる。これにより、反応液の温度を迅速に

制御して反応を進行させながら、反応の進行状況をリアルタイムでモニタリングすることができる。

本発明の方法は、例えば、本発明の反応容器又は本発明の反応装置を使用して実施することができる。

(42) 本発明の方法の第一態様においては、前記反応液の温度制御に利用する前記反応室の接触面と、前記反応液への光の照射に利用する前記反応室の接触面及び／又は前記反応液からの蛍光の検出に利用する前記反応室の接触面とが異なる面である。

本態様に係る反応においては、反応室が反応液と接触する面（反応室の接触面）のうち、反応液の温度制御に利用する面（工程（b）で利用する面）と、反応の進行状況のモニタリングに利用する面（工程（c）及び／又は工程（d）で利用する面）とを別個のものとすることによって、反応液の温度制御を迅速に行なうことができるとともに、反応の進行状況をモニタリングする領域を自由に設定することができる。これにより反応液全体における反応の進行状況をモニタリングすることもできる。

(43) 本発明の方法の第二態様においては、前接触部材に、液体を吸引及び吐出し得るノズルに装着されたノズルチップを嵌装し得るノズルチップ嵌装空間が形成されており、前記反応室における反応の終了後に、前記反応室の外部に設けられた穿孔針により、前記反応室の外部と前記反応室の内部と前記ノズルチップ嵌装空間とを連通させる貫通孔を形成する工程（e）と、前記ノズルに装着された前記ノズルチップを前記ノズルチップ嵌装空間に嵌装する工程（f）と、前記反応室の外部を液体と接触させる工程（g）と、前記ノズルを操作して前記貫通孔を介した

前記液体の吸引及び吐出を行なうことにより、前記反応室に収容された反応液を前記液体中に抽出する工程（h）とをさらに含む。

本態様に係る方法において、工程（e）、（f）及び（g）は任意の順序で行なうことができる。工程（e）は、反応室における反応の終了後に行なわれるが、工程（f）及び（g）は、前記反応室における反応の終了前（反応開始前及び反応進行段階のいずれをも含む）に行なってもよいし、当該反応の終了後に行なってもよい。第四態様に係る第二の反応装置を利用する場合には、工程（e）、（f）及び（g）のうち、工程（f）を最初に行ない、次いで、工程（e）及び（g）を任意の順序で行なう。工程（h）は、工程（e）、（f）及び（g）を行なった後、行なう。

（４４）本発明の方法の第三態様においては、前記反応室で生じる反応がPCRである。

本態様に係る方法において、反応室に収容する反応液はPCR用反応液である。本態様に係る方法においては、PCR用反応液の温度を迅速に制御してPCRを短時間で行ないつつ、PCRの進行状況（例えば、PCRによる標的核酸の増幅の有無、PCR増幅産物の量など）をリアルタイムでモニタリングすることができる。

#### 図面の簡単な説明

図１は、本発明に係る反応容器の第一実施形態を示す断面図である。

図２は、第一実施形態に係る反応容器の反応容器本体の上面図である。

図３は、第一実施形態に係る蓋材の下面図である。

図４は、第一実施形態に係る反応容器において、蓋材を反応容器本体に被着した状態を示す断面図である。

図 5 は、本発明に係る反応装置の第一実施形態を示す概略一部断面図である。

図 6 (i) ~ (iii) は、光ファイバーの配置例を示す説明図である (図 6 (ii) は図 5 の A-A 断面図に相当する)。

図 7 は、本発明に係る反応容器の第二実施形態を示す断面図である。

図 8 (i) は、第二実施形態に係る反応容器において、蓋材を反応容器本体に被着した状態を示す断面図であり、図 8 (ii) は、第二実施形態に係る反応容器において、反応容器本体に被着された蓋材にノズルチップを嵌装した状態を示す断面図である。

図 9 は、本発明に係る反応装置の第二実施形態を示す一部断面図である。

図 10 (i) は、第二実施形態に係る反応装置に設けられた第一温度制御部及び第二温度制御部の構造を示す分解斜視図であり、図 10 (ii) は、反応時における第一温度制御部及び第二温度制御部の状態を示す斜視図である。

図 11 は、第二実施形態に係る反応装置において、反応時の反応容器付近の状態を示す断面図である。

図 12 は、第二実施形態に係る反応装置の反応産物抽出までの動作を示す一部断面図である。

#### 発明を実施するための最良の形態

以下、本発明の実施形態を図面に基づいて説明する。

##### 〔第一実施形態〕

図 1 は、本発明に係る反応容器の第一実施形態を示す断面図、図 2 は、第一実施形態に係る反応容器の反応容器本体の上面図、図 3 は、第一実施形態に係る蓋材の下面図、図 4 は、第一実施形態に係る反応容器にお

いて、蓋材を反応容器本体に被着した状態を示す断面図、図5は、本発明に係る反応装置の第一実施形態を示す概略一部断面図、図6(i)～(iii)は、光ファイバーの配置例を示す説明図である。

図1及び図4に示すように、本実施形態に係る反応容器1aは、反応容器本体2aと蓋材3aとを備える。

図1及び図2に示すように、反応容器本体2aは、平面視矩形状の底板部22aと、底板部22aの周縁から上方に同一径を維持して立設された角筒状の第一側板部23aと、第一側板部23aの上端部から上方に漸次拡径するように立設された角筒状の第二側板部24aと、第二側板部24aの上端部から上方に同一径を維持して立設された角筒状の第三側板部25aと、第三側板部25aの上端部に設けられた突縁部26aとを有する。

図2に示すように、第一側板部23a、第二側板部24a及び第三側板部25aの横断面は矩形状となっており、第一側板部23aの内周面213a、第二側板部24aの内周面214a及び第三側板部25aの内周面215aは、それぞれ4つの平面によって構成されている。なお、矩形状には長方形のほか正方形も含まれる。

図1に示すように、反応容器本体2aの突縁部26aには凹部261aが設けられており、蓋材3aが反応容器本体2aに被着されると、図4に示すように、反応容器本体2aの凹部261aと蓋材3aの凸部37aとが嵌合して蓋材3aが反応容器本体2aに固定されるようになっている。

図1に示すように、反応容器本体2aは、上端に開口部211aを有し反応液4aを収容し得る反応室21aを具備する。図1に示すように、反応室21aは、上端に開口部211aを有する凹部として反応容器本体2aに形成されている。反応室21aは、底板部22aと第一側板部

23aと第二側板部24aと第三側板部25aとによって形成された凹部であり、底板部22aの上面212aは反応室21aの底面に相当し、第一側板部23aの内周面213a、第二側板部24aの内周面214a及び第三側板部25aの内周面215aは反応室21aの内周面に相当する。

図1に示すように、反応室21aの開口部211aの開口面積は、反応室21aの底面の面積よりもやや大きくなっており、開口部211aから添加された反応液4aがそのまま（反応液4aに下方へ重力以外の力を加えなくても）反応室21aの底面に到達しやすい構造になっている。反応液4aの添加の仕方によっては反応室21aの内周面に反応液4aが付着する場合もあるが、そのような場合にはボルテックスミキサー等を利用して反応容器本体2aに振動を与えることによって、反応液4aを反応室21aの底面に到達させることができる。

図1に示すように、底板部22a、第一側板部23a、第二側板部24a及び第三側板部25aは、略均一の厚みを有している。なお、「略均一の厚み」には厚みが均一である場合も含まれる。各板部の厚みは適宜変更することができるが、底板部22aは、反応室21aに收容された反応液4aの迅速な温度制御の点から薄板であることが好ましい。また、第一側板部23aは、反応室21aに收容された反応液4aへの励起光の照射条件及び反応液4aから発せられる蛍光の検出条件を簡易に設定する点から薄板であることが好ましい。薄板の厚みは、薄板を構成する材料などによって適宜決定し得るが、例えばプラスチックの場合には0.1～0.5mm程度であることが好ましい。

図1に示すように、反応容器本体2aが具備する反応室21aの個数は1個であるが、反応容器本体が具備する反応室の個数及び位置は適宜変更することができる。例えば、反応容器本体は、一列に並んだ8個の



反応室を具備していてもよいし、縦列 8 個×横列 1 2 個の合計 9 6 個の反応室を具備していてもよい。反応容器本体が具備する反応室の個数が複数である場合には、サンプル処理を効率よく行なうことができる。例えば、8 連ノズルユニットを搭載したサンプル分注装置が市販されているので、反応容器本体が 1 列に 8 個の反応室を具備している場合には、このようなサンプル分注装置を利用することにより、反応室への反応液の分注を自動化することができる。

図 1 に示すように、蓋材 3 a が反応容器本体 2 a に被着される前の状態においては、反応室 2 1 a に収容された反応液 4 a は、反応室 2 1 a の底面及び内周面と接触している。

図 1 に示すように、蓋材 3 a は、下方に突出した凸部 3 1 a と、凸部 3 1 a の上端部に設けられた平板部 3 6 a とを有する。

図 1 に示すように、平板部 3 6 a の周縁部には下方に突出した突縁部が設けられており、この突縁部の下端部には凸部 3 1 の方向へ突出する凸部 3 7 a が設けられている。蓋材 3 a を反応容器本体 2 に被着すると、図 4 に示すように、反応容器本体 2 a の凹部 2 6 1 a と蓋材 3 a の凸部 3 7 a とが嵌合して蓋材 3 a が反応容器本体 2 a に固定されるようになっている。

図 1 及び図 3 に示すように、凸部 3 1 a は、平面視矩形状の平板からなる押圧部 3 2 a と、押圧部 3 2 a の周縁から上方に漸次拡径するように立設された角筒状の第一側板部 3 3 a と、第一側板部 3 3 a の上端部から上方に漸次拡径するように立設された角筒状の第二側板部 3 4 a と、第二側板部 3 4 a の上端部から上方に同一径を維持して立設された角筒状の第三側板部 3 5 a とから構成されており、第三側板部 3 5 a の上端部において平板部 3 6 a と連続している。

図 3 に示すように、第一側板部 3 3 a、第二側板部 3 4 a 及び第三側

板部 3 5 a の横断面は矩形状となっており、第一側板部 3 3 a の外周面 3 1 3 a、第二側板部 3 4 の外周面 3 1 4 a 及び第三側板部 3 5 a の外周面 3 1 5 a は、それぞれ 4 つの平面によって構成されている。なお、矩形状には長方形のほか正方形も含まれる。

図 1 に示すように、押圧部 3 2 a、第一側板部 3 3 a、第二側板部 3 4 a 及び第三側板部 3 5 a は、略均一の厚みを有している。なお、「略均一の厚み」には厚みが均一である場合も含まれる。各板部の厚みは適宜変更することができるが、押圧部 3 2 a は、反応室 2 1 a に収容された反応液 4 a の迅速な温度制御の点から薄板であることが好ましい。薄板の厚みは、薄板を構成する材料などによって適宜決定し得るが、例えばプラスチックの場合には 0.1 ～ 0.5 mm 程度であるのが好ましい。

図 1 及び図 3 に示すように、蓋材 3 a が有する凸部 3 1 a の個数は 1 個であるが、蓋材における凸部の個数及び位置は、反応容器本体が具備する反応室の個数及び位置に応じて適宜変更することができる。

凸部 3 1 a は、反応容器本体 2 a に凹部として形成されている反応室 2 1 a と嵌合するように、蓋材 3 a に設けられており、蓋材 3 a が反応容器本体 2 a に被着されると、図 4 に示すように、蓋材 3 a によって反応室 2 1 a の開口部 2 1 1 a が封止されるようになっている。

凸部 3 1 a は、蓋材 3 a が反応容器本体 2 a に被着された状態において、凸部 3 1 a の押圧部 3 2 a の下面 3 1 2 a が反応室 2 1 a の底面と接触しないように設けられている。したがって、蓋材 3 a が反応容器本体 2 a に被着されると、図 4 に示すように、凸部 3 1 a の押圧部 3 2 a の下面 3 1 2 a と反応室 2 1 a の底面との間に間隙（密閉空間 S 1 a）が形成されるようになっている。

凸部 3 1 a の押圧部 3 2 a は、蓋材 3 a が反応容器本体 2 a に被着された状態において、反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a と対向するように

設けられており、蓋材 3 a が反応容器本体 2 a に被着されると、図 4 に示すように、凸部 3 1 a の押圧部 3 2 a の下面 3 1 2 (蓋材の接触面) と反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a の上面 2 1 2 a (反応室の対向面) との間に反応液 4 a が薄状となって收容されるようになっている。

このとき、凸部 3 1 a の押圧部 3 2 a の下面 3 1 2 a (蓋材の接触面) と反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a の上面 2 1 2 a (反応室の対向面) との間に薄状となって存在する反応液 4 a は、反応容器本体 2 a の第一側板部 2 3 a の内周面 2 1 3 a (反応室の包囲面) によって包囲された状態となっている。すなわち、蓋材 3 a が反応容器本体 2 a に被着されると、図 4 に示すように、凸部 3 1 a の押圧部 3 2 a の下面 3 1 2 a (蓋材の接触面) と反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a の上面 2 1 2 a (反応室の対向面) と反応容器本体 2 a の第一側板部 2 3 a の内周面 2 1 3 a (反応室の包囲面) とによって密閉空間 S 1 a が形成されて、反応液 4 a の一部は密閉空間 S 1 a に薄状となって收容されるようになっている。

図 4 に示すように、密閉空間 S 1 a に收容された反応液 4 a は、凸部 3 1 a の押圧部 3 2 a の下面 3 1 2 a (蓋材の接触面)、反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a の上面 2 1 2 a (反応室の対向面)、及び反応容器本体 2 a の第一側板部 2 3 a の内周面 2 1 3 a (反応室の包囲面) のいずれの面とも接触した状態にある。

凸部 3 1 a の押圧部 3 2 a は、蓋材 3 a が反応容器本体 2 a に被着される過程において、反応室 2 1 a に收容された反応液 4 a を押圧するよう設けられており、押圧部 3 2 a の押圧によって反応液 4 a は反応室 2 1 a の上部へと徐々に押出されるようになっている。そして、蓋材 3 a が反応容器本体 2 a に被着されると、図 4 に示すように、蓋材 3 a の第一側板部 3 3 a の外周面 3 1 3 a と、反応容器本体 2 a の第二側板部 2 4 a の内周面 2 1 4 a とが当接するようになっている。これによって、

押圧部 3 2 a の下方への移動は制限され、凸部 3 1 a の押圧部 3 2 a の下面 3 1 2 a (蓋材の接触面) と反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a の上面 2 1 2 a (反応室の対向面) との距離は一定となるようになっている。なお、本実施形態において、蓋材 3 a と反応容器本体 2 a とが当接する面 (当接面) はテーバ状となっているが、例えば、蓋材の反応容器本体への被着方向に対して垂直な面を当接面とすることもできる。

蓋材 3 a が反応容器本体 2 a に被着されると、図 4 に示すように、蓋材 3 a の第一側板部 3 3 a の外側面 3 1 3 a と反応容器本体 2 a の第二側板部 2 4 a の内周面 2 1 4 a とが密着するようになっているとともに、蓋材 3 a の第三側板部 3 5 a の外側面 3 1 5 a と反応容器本体 2 a の第三側板部 2 5 a の内周面 2 1 5 a とが密着するようになっている。これによって、密閉空間 S 1 a の密閉性を保持することができるとともに、密閉空間 S 1 a に収容された反応液 4 a へのコンタミネーションを防止することができる。

一方、蓋材 3 a が反応容器本体 2 a に被着しても、図 4 に示すように、蓋材 3 a の第二側板部 3 4 a と反応容器本体 2 a の第二側板部 2 4 a 及び第三側板部 2 5 a とは密着しないようになっている。すなわち、蓋材 3 a の第二側板部 3 4 a と反応容器本体 2 a の第二側板部 2 4 a 及び第三側板部 2 5 a との間には、密閉空間 S 1 a に収容しきれない反応液 4 a の残部が収容される密閉空間 S 2 a (反応液残部収容部) が形成されるようになっている。

押圧部 3 2 a によって反応液 4 a が押圧されると、反応液 4 a とともに反応室 2 1 a 内の空気や反応液 4 a 中の気泡などが反応室 2 1 a の上部へと押出され、密閉空間 S 2 a に収容されるとともに、その一部は反応室 2 1 a 外へ排出されるようになっているので、密閉空間 S 1 a への空気の混入や密閉空間 S 1 a に収容された反応液 4 a への気泡の混入を

防止することができる。

凸部 3 1 a は、蓋材 3 a が反応容器本体 2 a に被着された状態において、凸部 3 1 a の押圧部 3 2 a の下面 3 1 2 a（蓋材の接触面）と反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a の上面 2 1 2 a（反応室の対向面）との間に存在する反応液 4 a が薄状となるように設けられている。すなわち、凸部 3 1 a は、蓋材 3 a が反応容器本体 2 a に被着された状態において、凸部 3 1 a の押圧部 3 2 a の下面 3 1 2 a（蓋材の接触面）と反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a の上面 2 1 2 a（反応室の対向面）との距離が短くなるように設けられている。

凸部 3 1 a の押圧部 3 2 a の下面 3 1 2 a（蓋材の接触面）と反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a の上面 2 1 2 a（反応室の対向面）との距離（すなわち、薄状の反応液 4 a の厚さ）は、好ましくは 0.1～0.5 mm である。また、凸部 3 1 a の押圧部 3 2 a の下面 3 1 2 a（蓋材の接触面）と反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a の上面 2 1 2 a（反応室の対向面）との距離（すなわち、薄状の反応液 4 の厚さ）は、いずれの位置においても均等であることが好ましい。

反応容器本体 2 a 及び蓋材 3 a の材質は、反応液 4 a によって腐食されず、反応室 2 1 a で生じる反応の条件（例えば、反応温度）に耐え得る材料であって、かつ光透過性を有する材料である。

反応容器本体 2 a はその全体が光透過性材料から構成されているので、反応容器本体 2 a の外部から密閉空間 S 1 a に収容された反応液 4 a へ、及び密閉空間 S 1 a に収容された反応液 4 a から反応容器本体 2 a の外部へ、反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a 及び第一側板部 2 3 a を介して光が透過できるようになっている。

また、蓋材 3 a もその全体が光透過性材料から構成されているので、反応容器本体 2 a の外部から密閉空間 S 1 a に収容された反応液 4 a へ、

及び密閉空間 S 1 a に収容された反応液 4 a から反応容器本体 2 a の外部へ、蓋材 3 a の押圧部 3 2 a を介して光が透過できるようになっている。

但し、反応容器本体 2 a 及び蓋材 3 a は、その全体が光透過性材料から構成されている必要はなく、反応室 2 1 a で生じている反応の進行状況をモニタリングするために光の透過をさせる必要がある部分が光透過性材料で構成されていれば十分である。

例えば、反応容器本体 2 a の第一側板部 2 3 a を介して反応液 4 a への励起光の照射及び反応液 4 a から発せられる蛍光の検出を行なう場合には、反応容器本体 2 a の第一側板部 2 3 a が光透過性材料で構成されていれば十分である。また、反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a を介して反応液 4 a への励起光の照射及び反応液 4 a から発せられる蛍光の検出を行なう場合には、反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a が光透過性材料で構成されていれば十分である。また、蓋材 3 a の押圧部 3 2 a を介して反応液 4 a への励起光の照射及び反応液 4 a から発せられる蛍光の検出を行なう場合には、蓋材 3 a の押圧部 3 2 a が光透過性材料で構成されていれば十分である。

また、反応容器本体 2 a 及び蓋材 3 a の一方のみを光透過性材料で構成し、他方を光不透過性材料で構成してもよい。例えば、反応容器本体 2 a の第一側板部 2 3 a を介して反応液 4 a への励起光の照射及び反応液 4 a から発せられる蛍光の検出を行なう場合、蓋材 3 a を光不透過性材料で構成してもよい。

反応容器本体 2 a 及び蓋材 3 a の材質としては、例えば、透明又は半透明である熱可塑性樹脂、ガラスなどが挙げられる。反応容器本体 2 a 及び蓋材 3 a の材質として熱可塑性樹脂を選択すれば、射出成形等の常法によって反応容器本体 2 a 及び蓋材 3 a を容易に成形することができ

る。反応温度が高温（例えば90～100℃）に達する場合には、耐熱性に優れた材料、例えばエンジニアリングプラスチックを使用することが好ましい。

図5に示すように、本実施形態に係る反応装置10aは、台座53aによって保持された反応容器1aと、熱電半導体素子61a、62aを具備する温度制御装置6aと、光源7aと、蛍光検出器8aと、複数の光ファイバー9aとを備える。

図5に示すように、温度制御装置6aが具備する熱電半導体素子61aは、蓋材3aの押圧部32a（押圧部32aの上面）に熱伝導性金属板51aを介して取付けられており、熱電半導体素子62aは、反応容器本体2aの底板部22a（底板部22aの下面）に熱伝導性金属板51aを介して取付けられている。熱電半導体素子は冷却素子としての利用（冷却）及び／又は発熱素子としての利用（加熱）が可能なものであり、例えばペルチェ素子などである。

温度制御装置6aは、熱電半導体素子61a、62aによる冷却及び加熱を制御することができるよう構成されており、熱電半導体素子61a、62aは温度制御装置6aに電氣的に接続されている。また、図5に示すように、熱電半導体素子61a、62aには冷却フィンを有する放熱部52aが装着されており、熱電半導体素子61a、62aを強制冷却できるようになっている。温度制御装置6aによれば、蓋材3aの押圧部32aを介した熱移動と反応容器本体2aの底板部22aを介した熱移動とによって、反応容器1aの密閉空間S1aに収容された反応液4aの温度制御を迅速に行なうことができる。

反応液4aはPCR用反応液であり、密閉空間S1aに収容される反応液4aの量は好ましくは2～50μl程度である。温度制御装置6aによって反応液4aの温度制御が行なわれることによって、PCRが進

行する。このとき、反応液 4 a は密閉空間 S 1 a に薄状に收容されているので、容積に対する表面積の割合が大きくなっており、しかもその表面積のほとんどが薄層の上下の面、すなわち、蓋材 3 a の押圧部 3 2 a の下面 3 1 2 a (蓋材の接触面) と反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a の上面 2 1 2 a (反応室の対向面) によって占められている。したがって、蓋材 3 a の押圧部 3 2 a を介した熱移動と反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a を介した熱移動とによって、密閉空間 S 1 a に收容された反応液 4 a の温度制御を迅速に行なうことができ、PCR に要する時間を短縮化することができる。

光源 7 a は、反応液 4 a に含有される蛍光色素を励起させる励起光を発することができる装置である。図 5 に示すように、光源 7 a には複数の光ファイバー 9 a が装着されており、光源 7 a から発せられた励起光は光ファイバー 9 a を通じて照射されるようになっている。光ファイバー 9 a は、図 5 及び図 6 (ii) に示すように、反応容器本体 2 a の第一側板部 2 3 a の周囲 (第一側板部 2 3 a の外周面) に配置されており、光源 7 a から光ファイバー 9 a を通じて発せられた励起光は、反応容器本体 2 a の第一側板部 2 3 a を介して密閉空間 S 1 a に收容された反応液 4 a に照射されるようになっている。

反応液 4 a には、 $H_2O$ 、バッファー、 $MgCl_2$ 、dNTP ミックス、プライマー、鋳型 DNA、Taq ポリメラーゼなどに加え、PCR の進行状況 (標的核酸の増幅の有無、PCR 増幅産物の量など) の指標となる蛍光色素、例えば、エチジウムブロマイド、SYBR Green I、Pico Green などが含有されている。したがって、密閉空間 S 1 a に收容された反応液 4 a に励起光が照射されると、これらの蛍光色素から蛍光が発せられる。密閉空間 S 1 a に收容された反応液 4 a から発せられた蛍光は、反応容器本体 2 a の第一側板部 2 3 a を介して反応容



器本体 2 a の外部へ透過してくる。

蛍光検出器 8 a は、反応液 4 a から発せられる蛍光を検出することができる装置である。図 5 に示すように、蛍光検出器 8 a には複数の光ファイバー 9 a が装着されており、密閉空間 S 1 a に収容された反応液 4 から発せられ、反応容器本体 2 a の第一側板部 2 3 a を介して反応容器本体 2 a の外部へ透過してきた蛍光は、光ファイバー 9 a を通じて受光され、蛍光検出器 8 a によって検出されるようになっている。

光源 7 a 及び蛍光検出器 8 a の構成は特に限定されるものではなく、フィルタ、反射鏡、レンズなどを備えた一般的な装置を使用することができる。

反応液 4 a から発せられる蛍光強度は反応液 4 a に含まれる DNA 量に比例するので、蛍光強度を検出することによって、PCR の進行状況（例えば、PCR による標的核酸の増幅の有無、PCR 増幅産物の量など）をリアルタイムで（すなわち PCR の反応進行中に即座に）モニタリングすることができる。

光ファイバー 9 a は、その一端が光源 7 a 又は蛍光検出器 8 a に装着されているとともに、他端は反応容器本体 2 a の第一側板部 2 3 a の周囲（第一側板部 2 3 a の外周面）に配置されている。

光ファイバー 9 a の配置例を図 6 に示す。なお、図 6 は、図 5 の A-A 断面図に対応する図である。

図 6 (i) では、横断面矩形状である第一側板部 2 3 a の外周面のうち、1 つの面に複数の光ファイバー 9 a の一端が配置され、それぞれの光ファイバー 9 a によって反応液 4 a への励起光の照射と反応液 4 a から発せられる蛍光の受光の両方を行なうことができるようになっている。

図 6 (ii) では、横断面矩形状である第一側板部 2 3 a の外周面の対向する 2 つの面に複数の光ファイバー 9 a の一端が配置され、一方の面

に配置された光ファイバー 9 a によって反応液 4 a への励起光の照射を行ない、他方の面に配置された光ファイバー 9 a によって反応液 4 a から発せられる蛍光の受光を行なうことができるようになっている。

図 6 (iii) では、横断面矩形状である第一側板部 2 3 の外側面の直交する 2 つの面に複数の光ファイバー 9 の一端が配置され、一方の面に配置された光ファイバー 9 によって反応液 4 への励起光の照射を行ない、他方の面に配置された光ファイバー 9 によって反応液 4 から発せられる蛍光の受光を行なうことができるようになっている。

図 6 (i) ~ (iii) に示す例では、第一側板部 2 3 a の外周面に対して直交するように各光ファイバーを配置しており、これによって照射条件及び受光条件の設定が容易となる。

反応装置 1 0 a においては、反応容器本体 2 a 及び蓋材 3 a のうち、反応液 4 a の温度制御に利用する部分（蓋材 3 a の押圧部 3 2 a 及び反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a）と、反応の進行状況のモニタリングに利用する部分（反応容器本体 2 a の第一側板部 2 3 a）とが別個のものであるため、反応液 4 a の温度制御を迅速に行なうことができるとともに、反応の進行状況をモニタリングする領域を自由に設定することができる。

反応装置 1 0 a において、照射される励起光の種類及び検出される蛍光の種類は、各光ファイバー間で同一であってもよいし、光ファイバーごと又は光ファイバー群ごとに異なってもよい。反応液 4 a 中に異なる複数の蛍光色素を含有させておき、各蛍光色素に対応する励起光の照射、及び各蛍光色素から発せられる蛍光の検出を、光ファイバーごと又は光ファイバー群ごとに行なうことによって、異なる P C R を同時に進行させ、それぞれの反応の進行状況（それぞれの P C R による標的核酸の増幅の有無、それぞれの P C R 増幅産物の量など）をリアルタイム

でモニタリングすることができる。また、複数の光ファイバーによって同一の励起光を照射し、同一の蛍光を検出する場合には、複数の光ファイバーを横断面矩形状である第一側板部 2 3 a の外周面のうち、1つの面全体に配置することによって、反応液 4 a 全体に励起光を照射し、反応液 4 a 全体から発せられる蛍光を検出することができ、反応液 4 a 全体における反応の進行状況をモニタリングすることができる。

以上に説明した第一実施形態は、本発明の理解を容易にするために記載されたものであって、本発明を何ら限定するものではない。したがって、第一実施形態に開示された各要素は、本発明の技術的範囲に属する全ての設計変更や均等物をも含む趣旨である。

例えば、光ファイバー 9 a を蓋材 3 a の押圧部 3 2 a の上面に配置することができる。この場合、蓋材 3 a の押圧部 3 2 a を介して、反応液 4 a への励起光の照射及び／又は反応液 4 a から発せられる蛍光の検出を行なうことができる。

また、光ファイバー 9 a を反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a の下面に配置することができる。この場合、反応容器本体 2 a の底板部 2 2 a を介して、反応液 4 a への励起光の照射及び／又は反応液 4 a から発せられる蛍光の検出を行なうことができる。

また、反応液 4 a への励起光の照射及び反応液 4 a から発せられる蛍光の検出を、光ファイバーを利用して行なうのではなく、レンズなどを利用して行なうこともできる。レンズを利用することによって、反応液 4 a 全体する励起光の照射及び反応液 4 a 全体から発せられる蛍光の検出を容易に行なうことができる。

#### 〔第二実施形態〕

図 7 は、本発明に係る反応容器の第二実施形態を示す断面図、図 8 (i)

は、第二実施形態に係る反応容器において、蓋材を反応容器本体に被着した状態を示す断面図、図 8 (ii) は、第二実施形態に係る反応容器において、反応容器本体に被着された蓋材にノズルチップを嵌装した状態を示す断面図、図 9 は、本発明に係る反応装置の第二実施形態を示す一部断面図、図 10 (i) は、第二実施形態に係る反応装置に設けられた第一温度制御部及び第二温度制御部の構造を示す分解斜視図、図 10 (ii) は、反応時における第一温度制御部及び第二温度制御部の状態を示す斜視図、図 11 は、第二実施形態に係る反応装置において、反応時の反応容器付近の状態を示す断面図、図 12 は、第二実施形態に係る反応装置の反応産物抽出までの動作を示す一部断面図である。

図 7 及び図 8 に示すように、本実施形態に係る反応容器 1 b は、反応容器本体 2 b と蓋材 3 b とを備える。

図 7 に示すように、反応容器本体 2 b は、円板状の底板部 22 b と、底板部 22 b の周縁から上方に同一径を維持するように立設された円筒状の第一側板部 23 b と、第一側板部 23 b の上端部から上方に漸次拡径するように立設されたテーパ状の第二側板部 24 b と、第二側板部 24 b の上端部から上方に同一径を維持するように立設された円筒状の第三側板部 25 b と、第三側板部 25 b の上端周縁部に設けられたフランジ部 26 b とを有する。

反応容器本体 2 b の底板部 22 b 及び第一側板部 23 b ～第三側板部 25 b は、反応液によって腐食されず、反応室で生じる反応の条件（例えば、反応温度）に耐え得る材料であって、かつ光透過性を有する材料（例えば、透明又は半透明である熱可塑性樹脂、ガラス等）で構成される薄板からなり、薄板の厚さは好ましくは 0.1 ～ 0.5 mm 程度である。

図 7 に示すように、反応容器本体 2 b には、底板部 22 b 及び第一側

板部 2 3 b ~ 第三側板部 2 5 b によって囲繞された反応室 2 0 b が形成されており、反応容器本体 2 の上端には、反応室 2 0 b に通じる開口部 2 1 b が形成されている。

反応室 2 0 b には、開口部 2 1 b から反応液を収容できるようになっている。また、反応室 2 0 b は、開口部 2 1 b 以外の開口部に通じていないので、開口部 2 1 b が封止されると密閉されるようになっている(図 8 (i) 参照)。

反応容器本体 2 b の第三側板部 2 5 b の内径は、蓋材 3 b の第二側板部 3 4 b の外径と略同一となっており、蓋材 3 b が反応容器本体 2 に被着されるとき、反応容器本体 2 b の第三側板部 2 5 b の内周面と、蓋材 3 b の第二側板部 3 4 b の外周面とが密着するようになっている(図 8 (i) 参照)。

図 7 に示すように、反応容器本体 2 b の第三側板部 2 5 b の内周面には、凸部 2 7 b が設けられており、凸部 2 7 b は、蓋材 3 b の第二側板部 3 4 b の外周面に設けられた凹部 3 6 b と嵌合できるようになっている(図 8 (i) 参照)。

図 7 に示すように、反応容器本体 2 b の第一側板部 2 3 b の上端部には、当接面 2 8 b が設けられており、当接面 2 8 b は、蓋材 3 b が反応容器本体 2 b に被着されるとき、蓋材 3 b の底板部 3 2 b と当接するようになっている(図 8 (i) 参照)。

図 7 に示すように、蓋材 3 b は、円板状の底板部 3 2 b と、底板部 3 2 b の周縁から上方に漸次拡径するように立設されたテーパ状の第一側板部 3 3 b と、第一側板部 3 3 b の上端部から上方に同一径を維持するように立設された円筒状の第二側板部 3 4 b と、第二側板部 3 4 b の上端周縁部に設けられたフランジ部 3 5 b とを有する。

蓋材 3 b の底板部 3 2 b、第一側板部 3 3 b 及び第二側板部 3 4 b は、

反応液によって腐食されず、反応室で生じる反応の条件（例えば、反応温度）に耐え得る材料であって、かつ光透過性を有する材料（例えば、透明又は半透明である熱可塑性樹脂、ガラス等）で構成される薄板からなり、薄板の厚さは好ましくは0.1～0.5 mm程度である。

図7に示すように、蓋材3bには、底板部32b、第一側板部33b及び第二側板部34bによって囲繞されたノズルチップ嵌装空間30bが形成されており、蓋材3bの上端には、ノズルチップ嵌装空間30bに通じるノズルチップ嵌装口31bが形成されている。

ノズルチップ嵌装空間30bは、ノズルチップ嵌装口31bからノズルチップ4bを嵌装できるように形成されている（図8(ii)参照）。また、ノズルチップ嵌装空間30bは、ノズルチップ嵌装口31b以外の開口部に通じていないので、ノズルチップ嵌装口31bが封止されると密閉されるようになっている（図8(ii)参照）。

ノズルチップ嵌装口31bは、蓋材3bのうち、反応容器本体2bの開口部21bを封止する部分以外の部分に形成されているので、蓋材3bが反応容器本体2bに被着された状態においても、ノズルチップ嵌装口31bからノズルチップ嵌装空間30bにノズルチップ4bを嵌装できるようになっている（図8(ii)参照）。

ノズルチップ嵌装空間30bの最深部（ノズルチップ嵌装空間30bのうちノズルチップ嵌装口31bから最も離反した部分）は、蓋材3bの底板部32bによって形成されており、ノズルチップ4bはノズルチップ嵌装口31bからノズルチップ嵌装空間30bの最深部に向けて嵌装されるようになっている（図8(ii)参照）。

ノズルチップ嵌装空間30bへのノズルチップ4bの嵌装方向は、反応容器1bが載置される面（反応容器1bの底板部22bの下面）に対して垂直又は略垂直となるように形成されているので（図8(ii)参照）、

ノズルチップ 4 b の嵌装の際に反応容器 1 b がノズルチップ 4 b から力を受ける力は、反応容器 1 b が載置される面に対して垂直又は略垂直な方向への力である。したがって、ノズルチップ 4 b の嵌装の際に反応容器 1 b の位置がずれることはなく、ノズルチップ 4 b をノズルチップ嵌装空間 3 0 b に容易に嵌装できるようになっている。

蓋材 3 b の第二側板部 3 4 b の外径は、反応容器本体 2 b の第三側板部 2 5 b の内径と略同一となっており、蓋材 3 b が反応容器本体 2 b に被着されるとき、反応容器本体 2 b の第三側板部 2 5 b の内周面と、蓋材 3 b の第二側板部 3 4 b の外周面とが密着するようになっている（図 8 (i) 参照）。

図 7 に示すように、蓋材 3 b の第二側板部 3 4 b の外周面には、凹部 3 6 b が設けられており、凹部 3 6 b は、反応容器本体 2 b の第三側板部 2 5 b の内周面に設けられた凸部 2 7 b と嵌合できるようになっている（図 8 (i) 参照）。

図 7 に示すように、蓋材 3 b の第二側板部 3 4 b の内周面には、凸部 3 7 b が設けられており、凸部 3 7 b は、ノズルチップ 4 b の第二側板部 4 4 b の外周面に設けられた凹部 4 9 b と嵌合できるようになっている（図 8 (ii) 参照）。

図 7 に示すように、蓋材 3 b の第二側板部 3 4 b の上端部には、当接面 3 8 b が設けられており、当接面 3 8 b は、ノズルチップ 4 b がノズルチップ嵌装空間 3 0 b に嵌装されるとき、ノズルチップ 4 b の第三側板部 4 6 b と当接するようになっている。（図 8 (ii) 参照）。

蓋材 3 b が反応容器本体 2 b に被着されると、図 8 (i) に示すように、反応容器本体 2 b の第三側板部 2 5 b の内周面と蓋材 3 b の第二側板部 3 4 b の外周面とが密着し、蓋材 3 b の底板部 3 2 b、第一側板部 3 3 b 及び第二側板部 3 4 b によって反応容器本体 2 b の開口部 2 1 b が封

止され、反応容器本体 2 b の反応室 2 0 b が密閉される。このとき、図 8 (i) に示すように、反応容器本体 2 b の第三側板部 2 5 b に設けられた凸部 2 7 b と、蓋材 3 b の第二側板部 3 4 b に設けられた凹部 3 6 b とが嵌合して、蓋材 3 b が反応容器本体 2 b に固着され、蓋材 3 b の反応容器本体 2 b への被着状態が強固なものとなる。

また、蓋材 3 b が反応容器本体 2 b に被着されると、図 8 (i) に示すように、反応容器本体 2 b の第一側板部 2 3 b の上端部に設けられた当接面 2 8 b と蓋材 3 b の底板部 3 2 b とが当接することにより、反応室 2 0 b 内における蓋材 3 b の底板部 3 2 b の位置が規定され（本実施形態では、蓋材 3 b の底板部 3 2 b が反応容器本体 2 b の底板部 2 2 b と接触しないように規定される）、反応容器本体 2 b の底板部 2 2 b と蓋材 3 b の底板部 3 2 b との間に密閉空間 S 1 b が形成される。すなわち、蓋材 3 b の底板部 3 2 b の下面（蓋材の接触面）と、反応容器本体 2 b の底板部 2 2 b の上面（反応室の対向面）と、反応容器本体 2 b の第一側板部 2 3 b の内周面（反応室の包囲面）とによって密閉空間 S 1 b が形成されて、反応液の一部は密閉空間 S 1 b に薄状となって収容されるようになっている。そして、密閉空間 S 1 b に収容された反応液は、蓋材 3 b の底板部 3 2 b の下面（蓋材の接触面）、反応容器本体 2 b の底板部 2 2 b の上面（反応室の対向面）、及び反応容器本体 2 b の第一側板部 2 3 b の内周面（反応室の包囲面）のいずれの面とも接触した状態にある。

また、蓋材 3 b が反応容器本体 2 b に被着されると、図 8 (i) に示すように、反応容器本体 2 b の第二側板部 2 4 b 及び第三側板部 2 5 b と蓋材 3 b の第一側板部 3 3 b との間に密閉空間 S 2 b が形成される。反応液は、蓋材 3 b の被着によって反応室 2 0 b 内に形成された密閉空間 S 1 b に収容され、密閉空間 S 1 b に収容しきれない反応液の残部は密



閉空間 S 2 b に收容される。このとき、反応液は蓋材 3 b の底板部 3 2 b によって押圧され、反応液とともに反応室 2 0 b 内の空気や反応液中の気泡等が反応室 2 0 b の上部へと押出され、密閉空間 S 2 b に收容されるとともに、その一部は開口部 2 1 b から反応室 2 0 b 外へ排出される。これにより、密閉空間 S 1 b への空気の混入や密閉空間 S 1 b に收容された反応液への気泡の混入が防止される。

図 7 に示すように、本実施形態に係るノズルチップ 4 b は、ノズルチップ 4 b の先端部を構成する円板状の先端板部 4 3 b と、先端板部 4 3 b の周縁から上方に漸次拡径するように立設されたテーパ状の第一側板部 4 4 b と、第一側板部 4 4 b の上端部から上方に同一径を維持するように立設された円筒状の第二側板部 4 5 b と、第二側板部 4 5 b の上端部から漸次拡径するように立設されたテーパ状の第三側板部 4 6 b と、第三側板部 4 6 b の上端部から上方に同一径を維持するように立設された円筒状の第四側板部 4 7 b と、第四側板部 4 7 b の上端周縁部に設けられたフランジ部 4 8 b とを有する。

図 7 に示すように、ノズルチップ 4 b には、先端板部 4 3 b 及び第一側板部 4 4 b ～第四側板部 4 7 b によって囲繞された内部空間 4 0 b が形成されている。ノズルチップ 4 b の上端には、内部空間 4 0 b に通じるノズル装着口 4 1 b が形成されており、ノズルチップ 4 b の先端板部 4 3 b には、内部空間 4 0 b を介してノズル装着口 4 1 b に通じる吸引吐出口 4 2 b が形成されている。

ノズルチップ 4 b には、ノズルチップ装着口 4 1 b から内部空間 4 0 b にノズル 1 6 b を装着できるようになっており（図 1 2 参照）、ノズル 1 6 b による吸引力及び吐出力は、内部空間 4 0 b 及び吸引吐出口 4 2 b を介してノズルチップ 4 b の外部に伝達できるようになっている。

図 7 に示すように、ノズルチップ 4 b の内部空間 4 0 b には、フィル

ター 6 b が設けられている。図 7 に示すように、フィルター 6 b は、吸引吐出口 4 2 b の近傍に位置するように設けられており、吸引吐出口 4 2 b から内部空間 4 0 b への液体の飛沫の進入を防止し、内部空間 4 0 b の汚染を防止できるようになっている。

ノズルチップ 4 b の第二側板部 4 5 b の外径は、蓋材 3 b の第二側板部 3 4 b の内径と略同一となっており、ノズルチップ 4 b が蓋材 3 b のノズルチップ嵌装空間 3 0 b に嵌装されるとき、ノズルチップ 4 b の第二側板部 4 5 b の外周面と、蓋材 3 b の第二側板部 3 4 b の内周面とが密着するようになっている（図 8 (ii) 参照）。

図 7 に示すように、ノズルチップ 4 b の第二側板部 4 5 b の外周面には、凹部 4 9 b が設けられており、凹部 4 9 b は、蓋材 3 b の第二側板部 3 4 b の内周面に設けられた凸部 3 7 b と嵌合できるようになっている（図 8 (ii) 参照）。

ノズルチップ 4 b が蓋材 3 b のノズルチップ嵌装空間 3 0 b に嵌装されると、図 8 (ii) に示すように、蓋材 3 b の第二側板部 3 4 b の内周面とノズルチップ 4 b の第二側板部 4 5 b の外周面とが密着し、ノズルチップ 4 b の先端板部 4 3 b、第一側板部 4 3 b 及び第二側板部 4 5 b によってノズルチップ嵌装口 3 1 b が封止され、ノズルチップ嵌装空間 3 0 b が密閉される。ここで、「密閉」とは、ノズル 1 6 b による吸引力及び吐出力をノズルチップ嵌装空間 3 0 b に伝達する上で妨げになる間隙、細孔等が存在していない状態を意味し、ノズルチップ 4 b の吸引吐出口 4 2 b に通じている状態は「密閉」に含まれる。

また、ノズルチップ 4 b が蓋材 3 b のノズルチップ嵌装空間 3 0 b に嵌装されると、図 8 (ii) に示すように、蓋材 3 b の第二側板部 3 4 b に設けられた凸部 3 7 b と、ノズルチップ 4 b の第二側板部 4 5 b に設けられた凹部 4 9 b とが嵌合して、ノズルチップ 4 b が蓋材 3 b に固着

され、ノズルチップ嵌装空間 3 0 b へのノズルチップ 4 b の嵌装状態が強固なものとなる。

また、ノズルチップ 4 b が蓋材 3 b のノズルチップ嵌装空間 3 0 b に嵌装されると、図 8 (ii) に示すように、蓋材 3 b の第二側板部 3 4 b の上端部に設けられた当接面 3 8 b とノズルチップ 4 b の第三側板部 4 6 b とが当接することにより、ノズルチップ嵌装空間 3 0 b 内におけるノズルチップ 4 b の先端板部 4 3 b の位置が規定され(本実施形態では、ノズルチップ 4 b の先端板部 4 3 b が蓋材 3 b の底板部 3 2 b と接触してノズルチップ 4 b の吸引吐出口 4 2 b が封止されることがないように規定される)、蓋材 3 b の底板部 3 2 b とノズルチップ 4 b の先端板部 4 3 b との間に、ノズルチップ 4 b の吸引吐出口 4 2 b に通じる密閉空間 S 3 b が形成される。密閉空間 S 3 b はノズルチップ 4 b の吸引吐出口 4 2 b 以外の開口部を有しないので、ノズル 6 b による吸引力及び吐出力は、ノズルチップ 4 b の吸引吐出口 4 2 b から密閉空間 S 3 b に効率よく伝達できるようになっている。

蓋材 3 b が反応容器本体 2 b に被着され、かつノズルチップ 4 b が蓋材 3 b に嵌装された状態において、密閉空間 S 1 b は、図 8 (ii) に示すように、反応容器本体 2 b の底板部 2 2 b との接触面を有するとともに、蓋材 3 b の底板部 3 2 b との接触面を有する。また、密閉空間 S 3 b は、図 8 (ii) に示すように、蓋材 3 b の底板部 3 2 b との接触面を有する。したがって、反応容器 1 b の外部に設けられた穿孔針で、反応容器本体 2 b の底板部 2 2 b 及び蓋材の底板部 3 2 b に貫通孔を形成することにより、反応容器 1 b の外部と密閉空間 S 1 b と密閉空間 S 3 b とを連通させることができる(図 1 2 (iii) 参照)。このとき、蓋材 3 b の底板部 3 2 b は、密閉空間 S 1 b の最深部(反応容器 1 b が載置される面を構成する反応容器本体 2 b の底板部 2 2 b)と対向しているの

で、反応容器 1 b が載置される面（反応容器本体 2 b の底板部 2 2 b の下面）に垂直又は略垂直に設けられた穿孔針により（例えば、穿孔用容器 5 b に設けられた穿孔針 5 1 b により）、反応容器 1 b の外部と密閉空間 S 1 b と密閉空間 S 3 b とを連通させる貫通孔を、反応容器本体 2 b の底板部 2 2 b 及び蓋材の底板部 3 2 b に形成することができる（図 1 2 (iii) 参照）。

図 9 に示すように、本実施形態に係る穿孔用容器 5 b は、本体部 5 0 b と穿孔針 5 1 b とを備える。本体部 5 0 b は、平面視矩形状の底板部と、底板部の周縁から立設された角筒状の側板部と、側板部の上端周縁部に設けられたフランジ部とを有する。本体部 5 0 b には、底板部と側板部とによって囲繞された液体収容空間 5 0 1 b が形成されており、本体部 5 0 b の上端には、液体収容空間 5 0 1 b に通じる開口部 5 0 2 b が形成されている。

穿孔用容器 5 b の液体収容空間 5 0 1 b には、開口部 5 0 2 b から液体を収容できるとともに、反応容器 1 b を収容できるようになっている（図 1 2 (iii) 参照）。

図 9 に示すように、穿孔針 5 1 b は、本体部 5 0 b の底板部から液体収容空間 5 0 1 b に突出するように、かつ反応容器 1 b が載置される面（本体部 5 0 b の底板部の上面）に対して略垂直となるように設けられており、蓋材 3 b が反応容器本体 2 b に被着された状態にある反応容器 1 b が液体収容空間 5 0 1 b に収容されると、反応容器本体 2 b の底板部 2 2 b 及び蓋材 3 b の底板部 3 2 b に貫通孔を形成できるようになっている（図 1 2 (iii) 参照）。

図 9 に示すように、穿孔針 5 1 b の先端部は尖形状となっており、穿孔針 5 1 b の材質は、反応容器本体 2 b 及び蓋材 3 b を構成するプラスチック、ガラス等を穿孔できるステンレススチール等の金属である。

図 9 に示すように、本実施形態に係る反応装置 10 b は、反応容器 1 b が設置される反応容器設置部 17 b と、穿孔用容器 5 b が設置される穿孔用容器設置部 18 b と、液体を吸引及び吐出し得るノズル 16 b と、ノズル 16 b を所定の方向へ移送するノズル移送部 15 b と、反応容器設置部 17 b に設けられた第一温度制御部 11 b と、第二温度制御部 13 b と、第二温度制御部 13 b を所定の方向に移送する温度制御部着脱部 14 b とを備える。

図 9 に示すように、反応容器設置部 17 b 及び穿孔用容器設置部 18 b は基台 100 b 上に設けられており、基台 100 b の上方には、第二温度制御部 13 b 及びノズル 16 b が上下左右に移動できる空間が設けられている。

図 9 に示すように、反応容器設置部 17 b には、第一温度制御部 11 b が設けられており、反応容器 1 b は第一温度制御部 11 b に設置されるようになっている。

図 9 ～図 11 に示すように、第一温度制御部 11 b は、断熱リング 110 b、伝熱体 111 b、断熱筐体 112 b、熱電半導体素子 113 b 及びヒートシンク 114 b を備える。

図 9 ～図 11 に示すように、断熱リング 110 b の略中央には、上端開口部から反応容器本体 2 b を収容できるとともに、下端開口部から伝熱体 111 b の突起部を嵌装できる空間が形成されており、当該空間に収容される反応容器本体 2 b は、当該空間に嵌装された伝熱体 111 b の突起部によって支持されるようになっている。断熱リング 110 b は、セラミックス等の断熱材料によって構成されており、伝熱体 111 b と反応容器本体 2 b との熱移動が効率よく行なわれるようになっている。

また、図 9 ～図 11 に示すように、断熱リング 110 b には、反応容器本体 2 b が収容される空間に連通する光ファイバー嵌装孔 115 b が設

けられており、光ファイバーを光ファイバー嵌装孔 1 1 5 b に嵌装することによって、伝熱体 1 1 1 b の突起部によって支持された反応容器本体 2 b の第一側板部 2 3 b の周囲（第一側板部 2 3 b の外周面）に光ファイバーを配置できるようになっている。光ファイバー嵌装孔 1 1 5 b は、断熱リング 1 1 0 b に複数設けられており、これら複数の光ファイバー嵌装孔 1 1 5 b には、光源（図示せず）に接続された光ファイバー及び蛍光検出器（図示せず）に接続された光ファイバーが嵌装され、光源から光ファイバーを通じて発せられた励起光を、反応容器本体 2 b の第一側板部 2 3 b を介して密閉空間 S 1 b に收容された反応液に照射できるとともに、密閉空間 S 1 b に收容された反応液から発せられ、反応容器本体 2 b の第一側板部 2 3 b を介して反応容器本体 2 b の外部へ透過してきた蛍光を、光ファイバーを通じて受光し、蛍光検出器によって検出できるようになっている。

図 9 ～ 図 1 1 に示すように、伝熱体 1 1 1 b は、円板部と突起部とから構成されており、突起部は断熱リング 1 1 0 b に嵌装され、円板部は、ヒートシンク 1 1 4 b 上に設けられた熱電半導体素子 1 1 3 b の上面と接触している。伝熱体 1 1 1 b は、銅等の金属によって構成されており、熱電半導体素子 1 1 3 b が発生する熱を効率よく反応容器本体 2 b に伝達できるようになっている。

熱電半導体素子 1 1 3 b は冷却素子としての利用（冷却）及び／又は発熱素子としての利用（加熱）が可能なもの、例えばペルチェ素子である。熱電半導体素子 1 1 3 b は電源（図示せず）に接続されており、電源から電力が供給されると、伝熱体 1 1 1 b を冷却及び／又は加熱できるようになっている。図 9 ～ 1 1 に示すように、熱電半導体素子 1 1 3 b の下面は、冷却フィンを有するヒートシンク 1 1 4 b と接触しており、熱電半導体素子 1 1 3 b はヒートシンク 1 1 4 によって強制冷却される

ようになっている。

図 9 ～ 図 11 に示すように、伝熱体 111b 及び熱電半導体素子 113b は、セラミックス等の断熱材料によって構成された断熱筐体 112b の内部に收容されており、熱電半導体素子 113b による伝熱体 111b の冷却及び／又は加熱が効率よく行なわれるようになっている。

第一温度制御部 11b は、熱電半導体素子 113b によって伝熱体 111b に加えられた熱を、反応容器本体 2b の下面と伝熱体 111b の突起部との接触面を介して反応容器本体 2b に伝達し、反応容器本体 2b の底板部 22b を介した熱移動によって、密閉空間 S1b に收容された反応液の温度を制御できるようになっている。

図 9 ～ 図 11 に示すように、第二温度制御部 13b は、断熱リング 130b、伝熱体 131b、断熱筐体 132b、熱電半導体素子 133b、ヒートシンク 134b、及び温度制御部着脱部 14b の伸縮アーム 142b が取り付けられるアーム取付部 135b を備える。

図 9 ～ 図 11 に示すように、断熱リング 130b の略中央には、上端開口部から伝熱体 131b の突起部を挿入できるとともに、下端開口部から蓋材 3b を挿入できる空間が形成されている。断熱リング 130b は、セラミックス等の断熱材料によって構成されており、伝熱体 131b と蓋材 3b との熱移動が効率よく行なわれるようになっている。

図 9 ～ 図 11 に示すように、伝熱体 131b は、円板部と突起部とから構成されており、突起部は断熱リング 130b に挿入され、円板部は熱電半導体素子 133b の下面と接触している。伝熱体 131b の突起部は、蓋材 3b のノズルチップ嵌装空間 30b に装着できるように形成されており、ノズルチップ嵌装空間 30b に装着された伝熱体 131b の突起部は、蓋材 3b の底板部 32b、第一側板部 33b 及び第二側板部 34b と接触するようになっている。伝熱体 131b の突起部の外径

は、断熱リング 1 3 0 b の内径よりも小さくなっており、伝熱体 1 3 1 b の突起部が断熱リング 1 3 0 b に挿入されると、伝熱体 1 3 1 b の突起部の外周面と断熱リング 1 3 0 b の内周面との間に、断熱リング 1 3 0 b の下端開口部に通じる間隙が形成されるようになっている。当該間隙には、蓋材 3 b が挿入できるようになっており、伝熱体 1 3 1 b の突起部が断熱リング 1 3 0 b に挿入された状態においても、伝熱体 1 3 1 b の突起部を蓋材 3 b のノズルチップ嵌装空間 3 0 b に装着できるようになっている。伝熱体 1 3 1 b は、銅等の金属によって構成されており、熱電半導体素子 1 3 3 b が発生する熱を効率よく蓋材 3 b に伝達できるようになっている。

熱電半導体素子 1 3 3 b は冷却素子としての利用（冷却）及び／又は発熱素子としての利用（加熱）が可能なもの、例えばペルチェ素子である。熱電半導体素子 1 3 3 b は電源（図示せず）に接続されており、電源から電力が供給されると、伝熱体 1 3 1 b を冷却及び／又は加熱できるようになっている。図 9 ～ 図 1 1 に示すように、熱電半導体素子 1 3 3 b の上面は、冷却フィンを有するヒートシンク 1 3 4 b と接触しており、熱電半導体素子 1 3 3 b はヒートシンク 1 3 4 b によって強制冷却されるようになっている。

図 9 ～ 図 1 1 に示すように、伝熱体 1 3 1 b 及び熱電半導体素子 1 3 3 b は、セラミックス等の断熱材料によって構成された断熱筐体 1 3 2 b の内部に收容されており、熱電半導体素子 1 3 3 b による伝熱体 1 3 1 b の冷却及び／又は加熱を効率よく行なうことができるようになっている。

第二温度制御部 1 3 b は、伝熱体 1 3 1 b の突起部が蓋材 3 b のノズルチップ嵌装空間 3 0 b に装着されると、熱電半導体素子 1 3 3 b によって伝熱体 1 3 1 b に加えられた熱を、蓋材 3 b の底板部 3 2 b、第一



側板部 3 3 b 及び第二側板部 3 4 b と伝熱体 1 1 1 b の突起部との接触面を介して蓋材 3 b に伝達し、蓋材 3 b の底板部 3 2 b を介した熱移動によって、密閉空間 S 1 b に収容された反応液の温度を制御できるようになっている。

図 9 に示すように、温度制御部着脱部 1 4 b は、基台 1 0 0 b の上面に略垂直に設けられたレール 1 4 0 b と、レール 1 4 0 b に沿って移動できる可動部 1 4 1 b と、可動部 1 4 1 b に設けられた伸縮アーム 1 4 2 b とを備える。

図 9 に示すように、伸縮アーム 1 4 2 b は、基台 1 0 0 b の上面に対して水平方向に伸縮できるように可動部 1 4 1 b に設けられている。図 9 に示すように、伸縮アーム 1 4 2 b の先端部には、アーム取付部 1 3 5 b を介して第二温度制御部 1 3 b が取り付けられており、第二温度制御部 1 3 b は、伸縮アーム 1 4 2 b の伸縮によって、基台 1 0 0 b の上面に対して水平方向に移送されるとともに、可動部 1 4 1 b の移動によって、基台 1 0 0 b の上面に対して垂直方向に移送されるようになっている。

温度制御部着脱部 1 4 b は、第二温度制御部 1 3 b を基台 1 0 0 b の上面に対して水平方向及び垂直方向に移送することによって、伝熱体 1 3 1 b の突起部を、第一温度制御部 1 1 b に設置された反応容器 1 b の蓋材 3 b のノズルチップ嵌装空間 3 0 b に装着できるとともに、ノズルチップ嵌装空間 3 0 b から脱着できるようになっている。

ノズル 1 6 b は、液体吸引吐出装置（図示せず）に接続されており、吸引吐出孔 1 6 0 b（図 1 2 参照）を介して液体を吸引及び吐出できるようになっている。また、吸引吐出孔 1 6 0 b はノズル 1 6 b の先端部に通じており、Ｏリング等を介してノズル 1 6 b の先端部に装着されたノズルチップ 4 b に、吸引力及び吐出力を伝達できるようになっている。

図9に示すように、ノズル移送部15bは、基台100bの上面に対して水平方向に設けられたレール150bと、レール150bに沿って移動できる可動部151bと、可動部151bに設けられた伸縮アーム152bとを備える。

図9に示すように、伸縮アーム152bは、基台100bの上面に対して垂直方向に伸縮できるように、可動部151bに設けられている。図9に示すように、伸縮アーム152bの先端部に取り付けられたノズル16bは、伸縮アーム152bの伸縮によって、基台100bの上面に対して垂直方向に移送されるとともに、可動部151bの移動によって、基台100bの上面に対して水平方向に移送されるようになっている。

ノズル移送部15bは、ノズル16bを基台100bの上面に対して水平方向及び垂直方向に移送することによって、ノズル16bに装着されたノズルチップ4bを、第一温度制御部11bに設置された反応容器1bの蓋材3bのノズルチップ嵌装空間30bに嵌装できるようになっている。さらに、ノズル移送部15bは、ノズルチップ4bが嵌装された反応容器1bを、穿孔用容器設置部18bに移送して、穿孔用容器設置部18bに設置された穿孔用容器5bの液体収容空間501bに開口部502bから収容し、穿孔用容器5bに設けられた穿孔針51bにより、反応容器本体2bの底板部22b及び蓋材3bの底板部32bに貫通孔を形成できるようになっている。

なお、温度制御部着脱部14bの動作とノズル移送部15bの動作は、干渉し合わないよう制御されている。

反応装置10bの動作を、反応容器1bにPCR反応液を収容してPCRを行なう場合を例にとって説明する。

反応容器本体2bの反応室20bに開口部21bからPCR反応液を

収容した後、蓋材 3 b を反応容器本体 2 b に被着する。このとき、反応容器本体 2 b の凸部 2 7 b と蓋材 3 b の凹部 3 6 b とが嵌合し、蓋材 3 b が反応容器本体 2 b に固着される（図 8 (i) 参照）。また、蓋材 3 b の被着によって反応室 2 0 b 内に密閉空間 S 1 b 及び密閉空間 S 2 b が形成され、PCR 反応液は密閉空間 S 1 b に収容されるとともに、密閉空間 S 1 b に収容しきれない PCR 反応液の残部は密閉空間 S 2 b に収容される（図 8 (i) 参照）。この状態の反応容器 1 b を、反応容器設置部 1 7 b に設けられた第一温度制御部 1 1 b に設置する（図 9 及び図 1 1 参照）。

反応装置 1 0 b は、第一温度制御部 1 1 b に設置された反応容器 1 b へ、温度制御部着脱部 1 4 b によって第二温度制御部 1 3 b を移送し、第二温度制御部 1 3 b の伝熱体 1 3 1 b の突起部を、蓋材 3 b のノズルチップ嵌装空間 3 0 b に装着する動作を行なう（図 9 及び図 1 1 参照）。

反応装置 1 0 b は、伝熱体 1 3 1 b の突起部をノズルチップ嵌装空間 3 0 b に装着した後、第一温度制御部 1 1 b 及び第二温度制御部 1 3 b によって、密閉空間 S 1 b に収容された PCR 反応液の温度を制御する動作を行なう。これにより、密閉空間 S 1 b に収容された PCR 反応液中で PCR が進行し、PCR 反応液中には反応産物として PCR 増幅断片 7 b が生成する（図 1 2 (i) 参照）。

このとき、PCR 反応液は、密閉空間 S 1 b に薄状に収容されているので、容積に対する表面積の割合が大きくなっており、しかもその表面積のほとんどが薄層の上下の面、すなわち蓋材 3 b の底板部 3 2 b の下面（蓋材の接触面）と反応容器本体 2 b の底板部 2 2 b の上面（反応室の対向面）によって占められている。したがって、蓋材 3 b の底板部 3 2 b を介した熱移動と反応容器本体 2 b の底板部 2 2 b を介した熱移動とによって、密閉空間 S 1 b に収容された PCR 反応液の温度制御を迅

速に行なうことができ、PCRに要する時間を短縮化することができる。

また、断熱リング110bの光ファイバー嵌装孔115bに嵌装された光ファイバーを通じて、光源から発せられる励起光を密閉空間S1bに収容されたPCR反応液に照射するとともに、密閉空間S1bに収容されたPCR反応液から発せられる蛍光を受光し、蛍光検出器で検出することにより、PCRの進行状況（例えば、PCRによる標的核酸の増幅の有無、PCR増幅産物の量など）をリアルタイムでモニタリングすることができる。

反応装置10bは、PCR終了後、温度制御部着脱部14bによって第二温度制御部13bを移送し、第二温度制御部13bの伝熱体131bの突起部を、蓋材3bのノズルチップ嵌装空間30bから脱着させる動作を行なう（図9参照）。

反応装置10bは、伝熱体131bの突起部をノズルチップ嵌装空間30bから脱着させた後、第一温度制御部11bに設置された反応容器1bの上方へ、ノズル移送部15bによってノズル16bを移送し、ノズル16bに装着されたノズルチップ4bをノズルチップ嵌装口31bからノズルチップ嵌装空間30bに嵌装する動作を行なう（図12（i）及び（ii）参照）。このとき、蓋材3bの凸部37bとノズルチップ4bの凹部49bとが嵌合して、ノズルチップ4bが蓋材3bに固着される。また、ノズルチップ嵌装空間30bへのノズルチップ4bの嵌装によって、ノズルチップ嵌装空間30b内には、ノズルチップ4bの吸引吐出口42bに通じる密閉空間S3bが形成される。

反応装置10bは、ノズル16bに装着されたノズルチップ4bをノズルチップ嵌装空間30bに嵌装した後、ノズル移送部15bによってノズル16bを移送し、ノズル16bに装着されたノズルチップ4bが嵌装されている反応容器1bを、穿孔用容器設置部18bの上方に移送

する動作を行なう（図 9 参照）。蓋材 3 b は反応容器本体 2 b に固着されており、ノズルチップ 4 b は蓋材 3 b に固着されているので、移送中に、蓋材 3 b が反応容器本体 2 b から脱着することはない、ノズルチップ 4 b が蓋材 3 b から脱着することもない。

反応装置 10 b は、反応容器 1 b を穿孔用容器設置部 18 b の上方に移送した後、伸縮アーム 152 b を伸ばし、反応容器 1 b を穿孔用容器設置部 18 b に設置された穿孔用容器 5 b の液体収容空間 501 b に開口部 502 b から収容し（このとき、反応容器本体 2 b の底板部 22 b の下面が、穿孔容器 5 b に設けられた穿孔針 51 b に押し付けられる）、穿孔用容器 5 b に設けられた穿孔針 51 b により、穿孔用容器 5 b の液体収容空間 501 b と反応容器 1 b の密閉空間 S1 b とノズルチップ嵌装空間 30 b とを連通させる貫通孔を、反応容器本体 2 b の底板部 22 b 及び蓋材 3 b の底板部 32 b に形成させる動作を行なう（図 12（c）参照）。このとき、穿孔針 51 b は、まず反応容器本体 2 b の底板部 22 b を穿孔して、穿孔用容器 5 b の液体収容空間 501 b と反応容器 1 b の密閉空間 S1 b とを連通させる貫通孔を形成し、次いで蓋材 3 b の底板部 32 b を穿孔して、反応容器 1 b の密閉空間 S1 b とノズルチップ嵌装空間 30 b 内の密閉空間 S3 b とを連通させる貫通孔を形成する。

穿孔針 51 b によって穿孔された反応容器 1 b は、穿孔用容器 5 b の液体収容空間 501 b と反応容器 1 b の密閉空間 S1 b とが反応容器本体 2 b の底板部 22 b に形成された貫通孔を通じて連通しており、反応容器 1 b の密閉空間 S1 b とノズルチップ嵌装空間 30 b 内の密閉空間 S3 b とが蓋材 3 b の底板部 32 b に形成された貫通孔を通じて連通しており、ノズルチップ嵌装空間 30 b 内の密閉空間 S3 b がノズルチップ 4 b の吸引吐出口 42 b に通じているので、ノズル 16 b による吸引力及び吐出力を穿孔用容器 5 b の液体収容空間 501 b に伝達できるよ

うになっている。

反応装置 10 b は、穿孔針 51 b による穿孔後、ノズル 16 b による吸引及び吐出を開始し、上記貫通孔を介して穿孔用容器 5 b の液体収容空間 501 b に収容された抽出液 8 b（例えば緩衝液）を吸引及び吐出することにより、反応容器 1 b の密閉空間 S1 b の PCR 反応液中に含まれる PCR 増幅断片 7 b を抽出液 8 b 中に抽出する動作を行なう（図 12 (iii) 参照）。このとき、ノズル 16 b による吸引及び吐出を開始すると、穿孔用容器 5 b の液体収容空間 501 b に収容された抽出液 8 b は、ノズル 16 b による吸引に伴って密閉空間 S1 b へ流入するとともに、ノズル 16 b による吐出に伴って密閉空間 S1 b から流出する。ノズル 16 b による吸引及び吐出を繰り返すことにより、抽出液 8 b の密閉空間 S1 b への流入及び密閉空間 S1 b からの流出が繰り返され、反応容器 1 b の密閉空間 S1 b の PCR 反応液に含まれる PCR 増幅断片 7 b は、穿孔用容器 5 b の液体収容空間 501 b に収容された抽出液 8 b 中に抽出される。

こうして、蓋材 3 b を反応容器本体 2 b に被着した状態で PCR を行なった後、蓋材 3 b を反応容器本体 2 b から脱着することなく、反応容器 1 b の密閉空間 S1 b の PCR 反応液中に含まれる PCR 増幅断片 7 b を取得できる。

以上に説明した第二実施形態は、本発明の理解を容易にするために記載されたものであって、本発明を何ら限定するものではない。したがって、第二実施形態に開示された各要素は、本発明の技術的範囲に属する全ての設計変更や均等物をも含む趣旨である。

蓋材 3 b を反応容器本体 2 b に被着して反応室 20 b を密閉する際には、反応容器本体 2 b の第三側板部 25 b の内周面と蓋材 3 b の第二側板部 34 b の外周面とを直接密着させるのではなく、リング等の密閉

性を保持できる部材を介在させて密着させることができる。ノズルチップ4bを蓋材3bのノズルチップ嵌装空間30bに嵌装してノズルチップ嵌装空間30bを密閉する際にも同様に、蓋材3bの第二側板部34bの内周面とノズルチップ4bの第二側板部45bの外周面とを直接密着させるのではなく、リング等の密閉性を保持できる部材を介在させて密着させることができる。このとき、リング等の部材に反応室20b又はノズルチップ嵌装空間30bの内部と外部とを連通させる間隙、細孔等を形成しておき、蓋材3bを反応容器本体2bに被着させるときに又はノズルチップ4bをノズルチップ嵌装空間30bに嵌装させるときに、反応室20b又はノズルチップ嵌装空間30bの内部の空気を外部へ排出することができる。また、反応容器本体2bの第三側板部25bの内周面又は蓋材3bの第二側板部34bの外周面に、あるいは蓋材3bの第二側板部34bの内周面又はノズルチップ4bの第二側板部45bの外周面に、反応室20b又はノズルチップ嵌装空間30bの内部と外部とを連通させる間隙、細孔等を形成しておくこともできる。

#### 産業上の利用の可能性

本発明によれば、反応液を反応室に収容する際に遠心を必須とせず反応の自動化を可能とし、反応室に収容された反応液の温度を迅速に制御することができるとともに、反応室に収容された反応液の量が微量であっても反応を進行させることができ、さらには反応室内で生じている反応をリアルタイムに（すなわち反応進行中に即座に）モニタリングすることができる反応容器、反応装置及び方法が提供される。

また、本発明によれば、蓋材を反応容器本体に被着した状態で反応を行なった後、蓋材を反応容器本体から脱着することなく、反応容器内の反応液に含まれる反応産物を取得できる反応容器、反応装置及び方法が

提供される。

本発明の反応容器、反応装置及び方法によれば、標的核酸を含む試料の調製（例えば、細胞からの核酸の抽出など）、P C R による標的核酸の増幅、P C R の進行状況（例えば、標的核酸の増幅の有無、P C R 増幅産物の量など）のモニタリング（例えば、検出、測定、定量など）、P C R 増幅断片の取得といった一連の作業の自動化が可能となり、多数の検体を並列的に効率よく処理することが可能となる。



## 請 求 の 範 囲

1. 開口部を有し反応液を収容し得る反応室を具備する反応容器本体と、前記反応室の開口部を封止し得る蓋材とを備えた反応容器であって、

前記蓋材及び前記反応室は、前記蓋材が前記反応容器本体に被着された状態において、前記反応室に収容された反応液と接触する接触面を有しており、

前記反応室に収容された反応液から前記反応容器の外部へ、前記蓋材の接触面を介して光が透過し得るように、前記蓋材が光透過性材料で構成されているか、あるいは、前記反応室に収容された反応液から前記反応容器の外部へ、前記反応室の接触面を介して光が透過し得るように、前記反応容器本体が光透過性材料で構成されていることを特徴とする反応容器。

2. 前記反応容器の外部から前記反応室に収容された反応液へ、前記蓋材の接触面を介して光が透過し得るように、前記蓋材が光透過性材料で構成されているか、あるいは、前記反応容器の外部から前記反応室に収容された反応液へ、前記反応室の接触面を介して光が透過し得るように、前記反応容器本体が光透過性材料で構成されていることを特徴とする請求項1記載の反応容器。

3. 前記蓋材の接触面の一部又は全体が平面であることを特徴とする請求項1又は2記載の反応容器。

4. 前記蓋材の接触面が、前記蓋材を構成する厚みの略均一な壁部の面であることを特徴とする請求項1又は2記載の反応容器。

5. 前記反応室の接触面の一部又は全体が平面であることを特徴とする請求項1又は2記載の反応容器。

6. 前記反応室の接触面が、前記反応容器本体を構成する厚みの略均

一な壁部の面であることを特徴とする請求項 1 又は 2 記載の反応容器。

7. 前記蓋材が前記反応容器本体に被着されると、前記蓋材の接触面と前記反応室の接触面とによって密閉空間が形成され、前記密閉空間に前記反応液の一部又は全部が収容されることを特徴とする 1 又は 2 記載の反応容器。

8. 前記蓋材が前記反応容器本体に被着されると、前記密閉空間に収容され得ない前記反応液の残部を収容し得る反応液残部収容部が、前記反応室内に形成されることを特徴とする請求項 7 記載の反応容器。

9. 前記反応室が、前記蓋材の接触面と対向する対向面を有しており、前記蓋材が前記反応容器本体に被着されると、前記反応室に収容された反応液の一部又は全体が、前記蓋材の接触面と前記反応室の対向面との間に薄状となって収容されることを特徴とする請求項 1 又は 2 記載の反応容器。

10. 前記反応室の対向面が、前記反応容器本体を構成する厚みの略均一な壁部の面であることを特徴とする請求項 9 記載の反応容器。

11. 前記反応容器の外部から前記反応室に収容された反応液へ、及び／又は前記反応室に収容された反応液から前記反応容器の外部へ、前記反応室の対向面を介して光が透過し得るように、前記反応室の対向面を有する前記壁部が光透過性材料で構成されていることを特徴とする請求項 10 記載の反応容器。

12. 前記反応容器本体が、前記蓋材と当接して前記蓋材の接触面と前記反応室の対向面との距離を規定する当接面を有することを特徴とする請求項 9 記載の反応容器。

13. 前記反応室が、前記蓋材の接触面と前記反応室の対向面との間に存在する前記反応液を包囲する包囲面を有しており、

前記蓋材が前記反応容器本体に被着されると、前記蓋材の接触面と前

記反応室の対向面と前記反応室の包囲面とによって密閉空間が形成され、前記反応液の一部又は全体が前記密閉空間に薄状となって収容されることを特徴とする請求項 9 記載の反応容器。

14. 前記反応室の包囲面の一部又は全体が平面であることを特徴とする請求項 13 記載の反応容器。

15. 前記反応室の包囲面の横断面が矩形状であることを特徴とする請求項 14 記載の反応容器。

16. 前記反応室の包囲面が、前記反応容器本体を構成する厚みの略均一な壁部の面であることを特徴とする請求項 13 記載の反応容器。

17. 前記反応容器の外部から前記反応室に収容された反応液へ、及び／又は前記反応室に収容された反応液から前記反応容器の外部へ、前記反応室の包囲面を介して光が透過し得るように、前記反応室の包囲面を有する前記壁部が光透過性材料で構成されていることを特徴とする請求項 16 記載の反応容器。

18. 前記蓋材に、液体を吸引及び吐出し得るノズルに装着されたノズルチップを嵌装し得るノズルチップ嵌装空間が形成されているとともに、前記蓋材が前記反応容器本体に被着された状態において、前記ノズルチップ嵌装空間に前記ノズルチップを嵌装し得るように、前記ノズルチップ嵌装空間に通じるノズルチップ嵌装口が形成されており、

前記蓋材が前記反応容器本体に被着された状態において、前記反応容器の外部に設けられた穿孔針により、前記反応容器の外部と前記密閉空間と前記ノズルチップ嵌装空間とを連通させる貫通孔を前記反応容器本体及び前記蓋材に形成し得ることを特徴とする請求項 7 記載の反応容器。

19. 前記蓋材に、液体を吸引及び吐出し得るノズルに装着されたノズルチップを嵌装し得るノズルチップ嵌装空間が形成されているとともに、前記蓋材が前記反応容器本体に被着された状態において、前記ノズル

ルチップ嵌装空間に前記ノズルチップを嵌装し得るように、前記ノズルチップ嵌装空間に通じるノズルチップ嵌装口が形成されており、

前記蓋材が前記反応容器本体に被着された状態において、前記反応容器の外部に設けられた穿孔針により、前記反応容器の外部と前密閉空間と前記ノズルチップ嵌装空間とを連通させる貫通孔を前記反応容器本体及び前記蓋材に形成し得ることを特徴とする請求項 13 記載の反応容器。

20. 前記ノズルチップ嵌装口が封止されると前記ノズルチップ嵌装空間が密閉されるように、前記ノズルチップ嵌装空間が形成されていることを特徴とする請求項 18 又は 19 記載の反応容器。

21. 前記ノズルチップ嵌装空間を形成する前記蓋材の壁部が、前記ノズルチップの外周面と密着し得る内周面を有することを特徴とする請求項 20 記載の反応容器。

22. 前記ノズルチップの外周面と密着し得る前記蓋材の壁部の内周面に、前記ノズルチップの外周面に設けられた凹部及び／又は凸部と嵌合し得る凸部及び／又は凹部が設けられていることを特徴とする請求項 21 記載の反応容器。

23. 前記蓋材の接触面が、前記ノズルチップ嵌装空間を形成する前記蓋材の壁部の面であることを特徴とする請求項 18 又は 19 記載の反応容器。

24. 前記蓋材の接触面が、前記ノズルチップ嵌装空間の最深部を形成する前記蓋材の壁部の面であることを特徴とする請求項 18 又は 19 記載の反応容器。

25. 前記ノズルチップ嵌装空間の最深部を形成する前記蓋材の壁部が、前記密閉空間の最深部を形成する前記反応容器本体の壁部と対向するように設けられていることを特徴とする請求項 24 記載の反応容器。

26. 前記ノズルチップ嵌装空間への前記ノズルチップの嵌装方向が、

前記反応容器が載置される面に対して垂直又は略垂直となるように、前記ノズルチップ嵌装空間が形成されていることを特徴とする請求項 18 又は 19 記載の反応容器。

27. 前記蓋材が、前記反応室の内周面と密着し得る外周面を有することを特徴とする請求項 18 又は 19 記載の反応容器。

28. 前記反応室の内周面に凹部及び／又は凸部が設けられており、前記蓋材の外周面に、前記反応室の内周面に設けられた凹部及び／又は凸部と嵌合し得る凸部及び／又は凹部が設けられていることを特徴とする請求項 27 記載の反応容器。

29. PCR 用反応容器であることを特徴とする請求項 1 又は 2 記載の反応容器。

30. 請求項 2 記載の反応容器と温度制御装置と光源と蛍光検出器とを備えた反応装置であって、

前記温度制御装置が、前記蓋材の接触面及び／又は前記反応室の接触面を介して前記反応室に収容された反応液の温度を制御し得るように、前記蓋材及び／又は前記反応容器本体に取付けられており、

前記光源が、前記反応室に収容された反応液へ前記蓋材の接触面及び／又は前記反応室の接触面を介して光を照射し得るように設けられており、

前記蛍光検出器が、前記反応室に収容された反応液から発せられる蛍光を前記蓋材の接触面及び／又は前記反応室の接触面を介して検出し得るように設けられていることを特徴とする反応装置。

31. 前記温度制御装置が、前記蓋材を構成する厚みの略均一な壁部であって前記蓋材の接触面を有する壁部、及び／又は前記反応容器本体を構成する厚みの略均一な壁部であって前記反応室の接触面を有する壁部に取付けられていることを特徴とする請求項 30 記載の反応装置。

32. 前記反応容器が請求項13記載の反応容器であり、

前記温度制御装置が、前記蓋材の接触面及び／又は前記反応室の対向面を介して前記反応室に収容された反応液の温度を制御し得るように、前記蓋材及び／又は前記反応容器本体に取付けられており、

前記光源が、前記反応室に収容された反応液へ前記反応室の包囲面を介して光を照射し得るように設けられており、

前記蛍光検出器が、前記反応室に収容された反応液から発せられる蛍光を前記反応室の包囲面を介して検出し得るように設けられていることを特徴とする請求項30記載の反応装置。

33. 前記温度制御装置が、前記蓋材を構成する厚みの略均一な壁部であって前記蓋材の接触面を有する壁部、及び／又は前記反応容器本体を構成する厚みの略均一な壁部であって前記反応室の対向面を有する壁部に取付けられていることを特徴とする請求項32記載の反応装置。

34. 前記反応室の包囲面の周囲に配置された複数の光ファイバーをさらに備え、

前記光源から前記反応液への光の照射及び／又は前記反応液から発せられる蛍光の検出が前記光ファイバーを利用して行なわれることを特徴とする請求項32記載の反応装置。

35. 請求項18又は19記載の反応容器が設置される反応容器設置部と、第一の温度制御装置と、第二の温度制御装置と、光源と、蛍光検出器とを備えた反応装置であって、

前記第一の温度制御装置が、前記反応容器設置部に設置された前記反応容器の前記密閉空間に収容された反応液の温度を、前記反応室の接触面を介して制御し得るように設けられており、

前記第二の温度制御装置が、前記蓋材のノズルチップ嵌装空間に脱着可能に装着され、前記反応容器設置部に設置された前記反応容器の前記

密閉空間に収容された反応液の温度を、前記蓋材の接触面を介して制御し得るように設けられており、

前記光源が、前記反応容器設置部に設置された前記反応容器の前記密閉空間に収容された反応液へ、前記蓋材の接触面及び／又は前記反応室の接触面を介して光を照射し得るように設けられており、

前記蛍光検出器が、前記反応容器設置部に設置された前記反応容器の前記密閉空間に収容された反応液から発せられる蛍光を、前記蓋材の接触面及び／又は前記反応室の接触面を介して検出し得るように設けられていることを特徴とする反応装置。

36. 前記反応容器が請求項19記載の反応容器であり、

前記第一の温度制御装置が、前記反応容器設置部に設置された前記反応容器の前記密閉空間に収容された反応液の温度を、前記反応室の対向面を介して制御し得るように設けられており、

前記光源が、前記反応容器設置部に設置された前記反応容器の前記密閉空間に収容された反応液へ、前記反応室の包囲面を介して光を照射し得るように設けられており、

前記蛍光検出器が、前記反応容器設置部に設置された前記反応容器の前記密閉空間に収容された反応液から発せられる蛍光を、前記反応室の包囲面を介して検出し得るように設けられていることを特徴とする請求項35記載の反応装置。

37. 前記反応室の包囲面の周囲に配置された複数の光ファイバーをさらに備え、

前記光源から前記反応液への光の照射及び／又は前記反応液から発せられる蛍光の検出が前記光ファイバーを利用して行なわれることを特徴とする請求項36記載の反応装置。

38. 前記第二の温度制御部を前記ノズルチップ嵌装空間に装着及び

脱着させる温度制御部着脱部をさらに備え、

前記温度制御部着脱部が、反応前において前記第二の温度制御装置を前記ノズルチップ嵌装空間に装着する動作と、反応後において前記第二の温度制御装置を前記ノズルチップ嵌装空間から脱着させる動作を行なうことを特徴とする請求項 3 5 記載の反応産装置。

3 9. 穿孔用容器が設置される穿孔用容器設置部と、液体を吸引及び吐出し得るノズルと、ノズル移送部とをさらに備え、

前記穿孔用容器が、液体を収容し得る液体収容空間と、前記液体収容空間に通じる開口部と、穿孔針とを備えており、

前記液体収容空間が、前記開口部から前記液体収容空間に前記反応容器を収容できるように形成されており、

前記穿孔針が、前記液体収容空間を形成する前記穿孔用容器の壁部から前記液体収容空間に突出するように設けられており、

前記ノズル移送部が、前記反応容器設置部に設置された前記反応容器の前記ノズルチップ嵌装空間に、前記ノズルに装着されたノズルチップを嵌装させる動作と、前記ノズルチップが嵌装された前記反応容器を、前記穿孔用容器設置部に移送する動作と、前記穿孔用容器設置部に設置された前記穿孔用容器の液体収容空間に前記反応容器を収容し、前記穿孔用容器に設けられた前記穿孔針により、前記穿孔用容器の液体収容空間と前記反応容器の前記密閉空間と前記ノズルチップ嵌装空間とを連通させる貫通孔を前記蓋材及び前記反応容器本体に形成させる動作とを行ない、

前記ノズルが、前記貫通孔を介して前記穿孔用容器の液体収容空間に収容された液体を吸引及び吐出することにより、前記反応容器の前記密閉空間に収容された反応液を前記液体中に抽出する動作を行なうことを特徴とする請求項 3 5 記載の反応装置。



40. PCR用反応装置であることを特徴とする請求項30又は35記載の反応装置。

41. 反応室に収容された反応液を接触部材と接触させる工程(a)と、前記反応液と前記反応室との接触面及び／又は前記反応液と前記接触部材との接触面を介して前記反応液の温度を制御する工程(b)と、前記反応液と前記反応室との接触面及び／又は前記反応液と前記接触部材との接触面を介して前記反応液へ光を照射する工程(c)と、前記反応液と前記反応室との接触面及び／又は前記反応液と前記接触部材との接触面を介して前記反応液から発せられる蛍光を検出する工程(d)とを含む方法。

42. 前記反応液の温度制御に利用する前記反応室の接触面と、前記反応液への光の照射に利用する前記反応室の接触面及び／又は前記反応液からの蛍光の検出に利用する前記反応室の接触面とが異なる面であることを特徴とする請求項41記載の方法。

43. 前接触部材に、液体を吸引及び吐出し得るノズルに装着されたノズルチップを嵌装し得るノズルチップ嵌装空間が形成されており、

前記反応室における反応の終了後に、前記反応室の外部に設けられた穿孔針により、前記反応室の外部と前記反応室の内部と前記ノズルチップ嵌装空間とを連通させる貫通孔を形成する工程(e)と、前記ノズルに装着された前記ノズルチップを前記ノズルチップ嵌装空間に嵌装する工程(f)と、前記反応室の外部を液体と接触させる工程(g)と、前記ノズルを操作して前記貫通孔を介した前記液体の吸引及び吐出を行なうことにより、前記反応室に収容された反応液を前記液体中に抽出する工程(h)とをさらに含む請求項41記載の方法。

44. 前記反応室で生じる反応がPCRであることを特徴とする請求項41記載の方法。

図 1

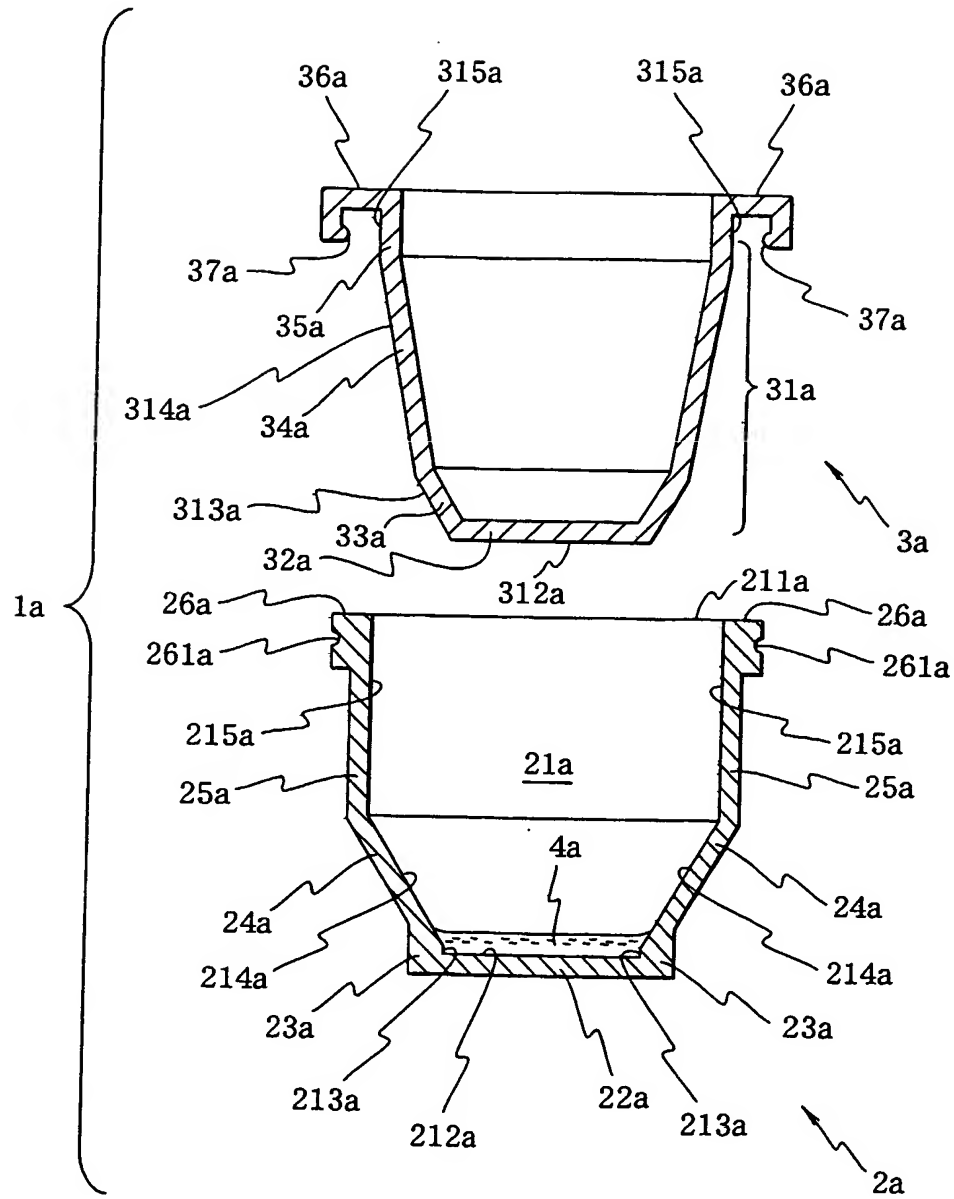


図 2

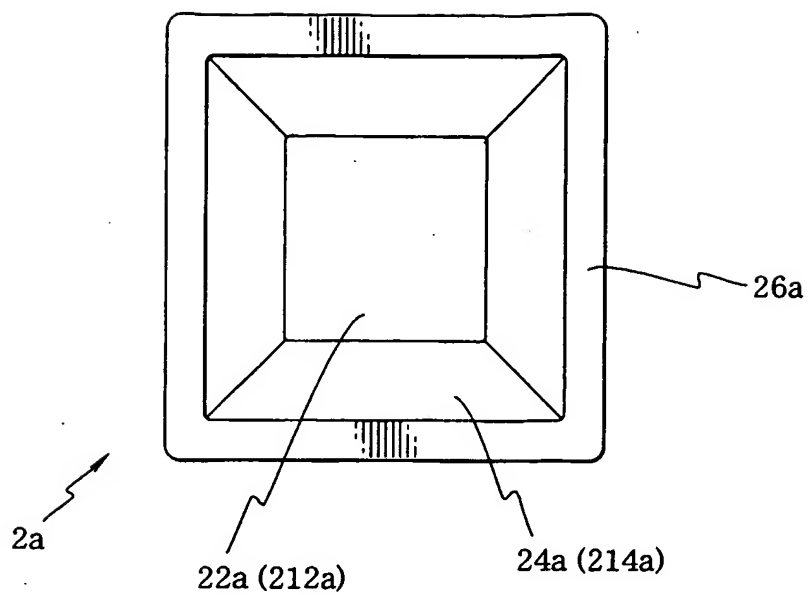


図 3

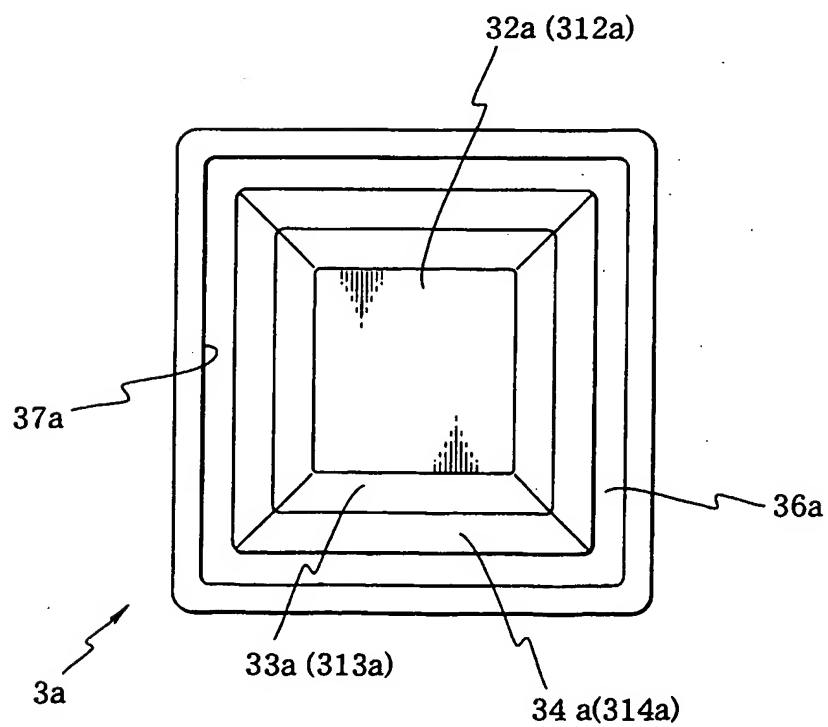


図 4

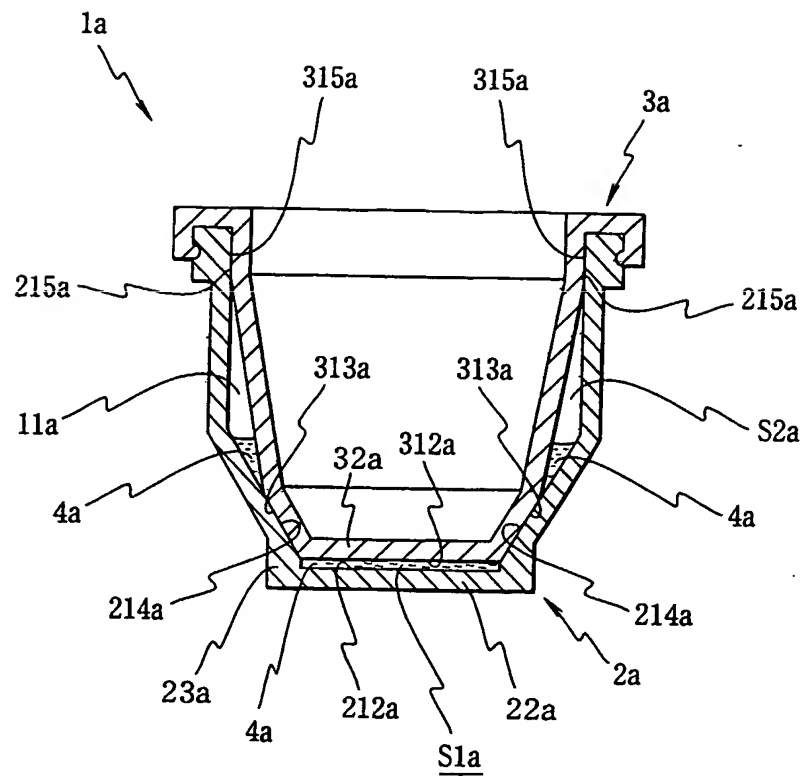


图 5

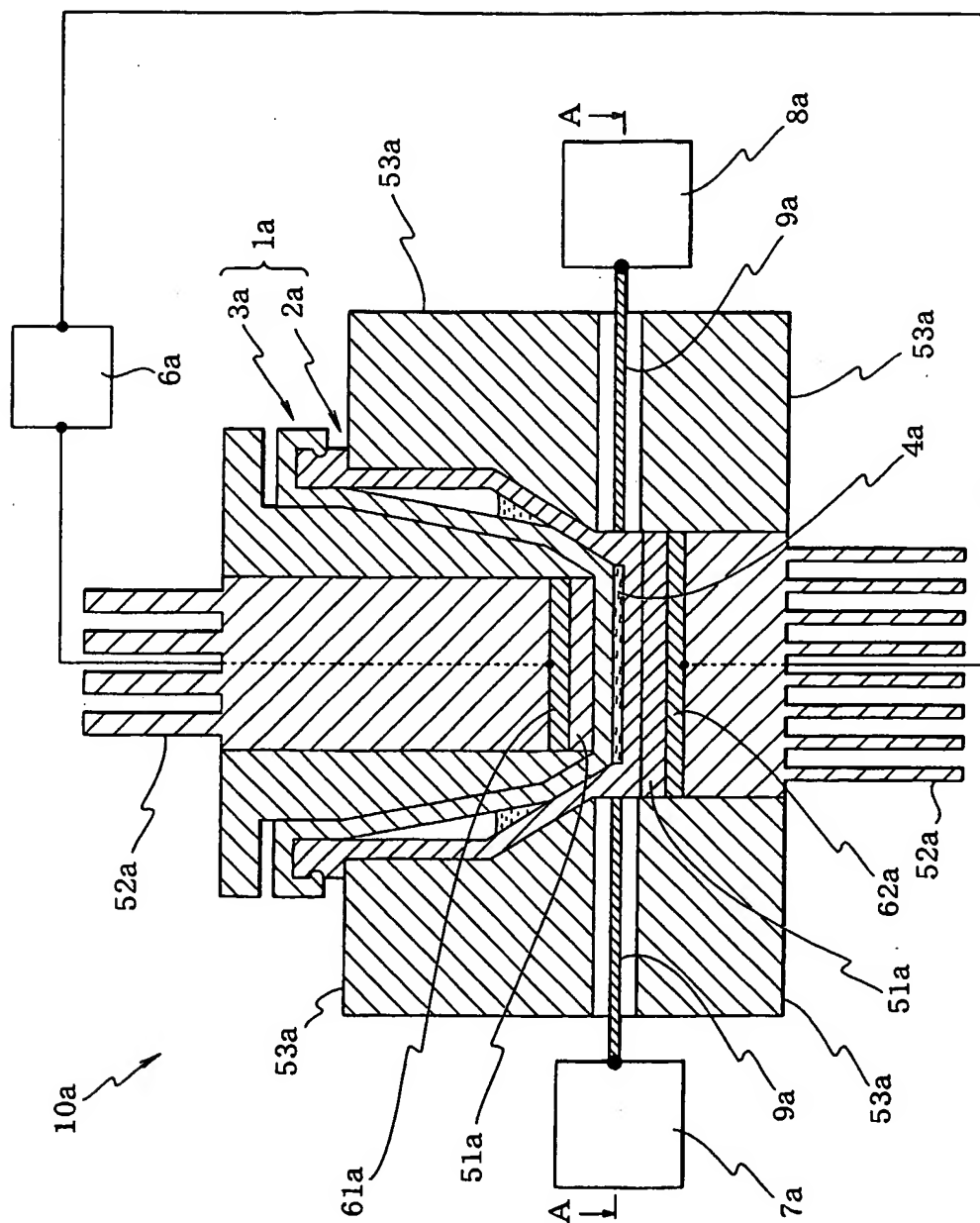


図 6

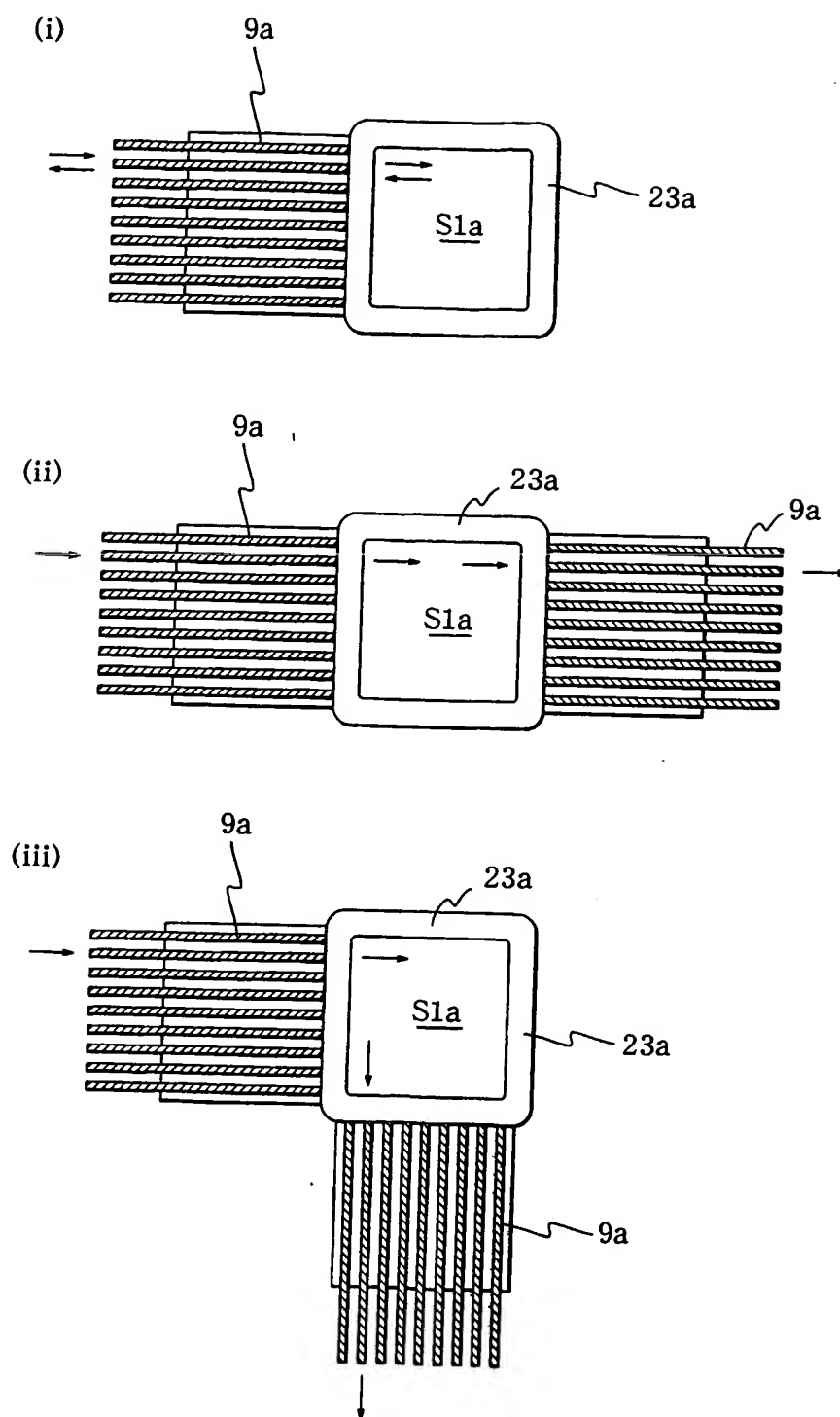
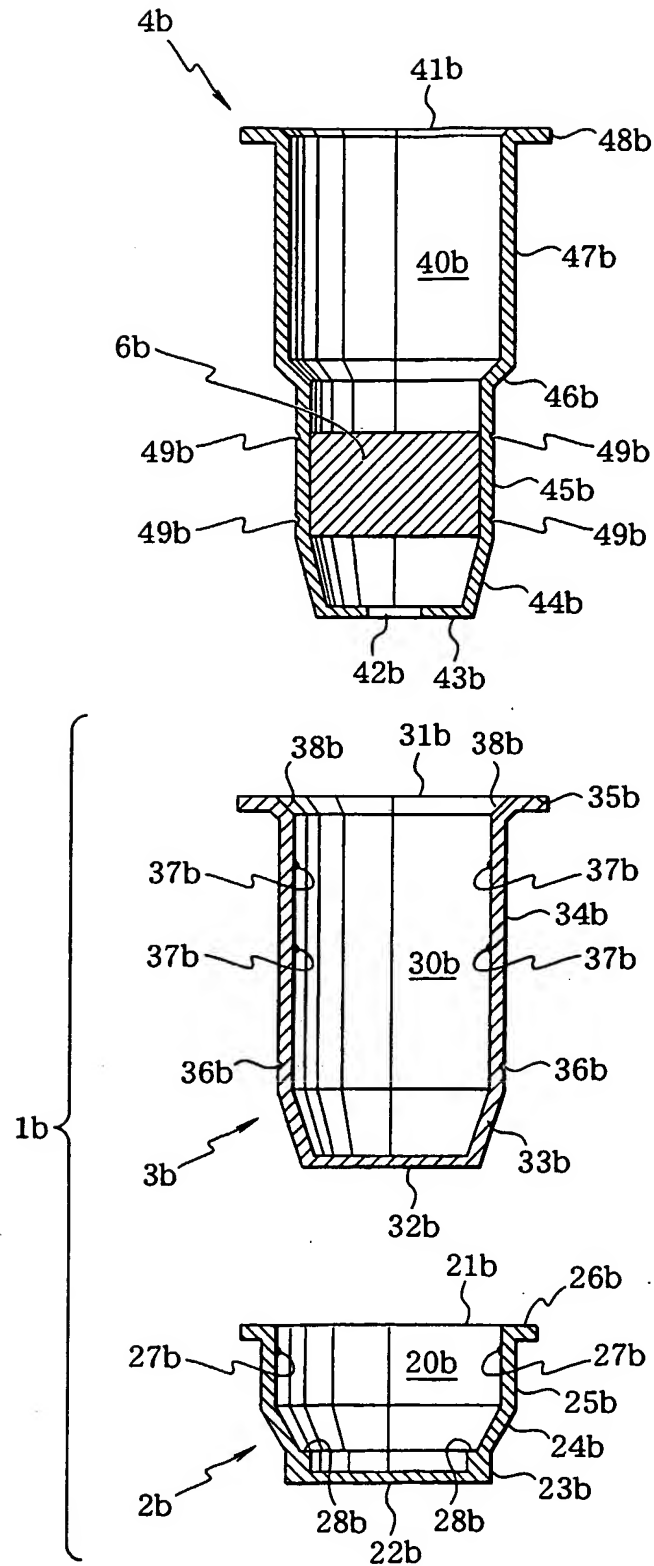


図 7



8

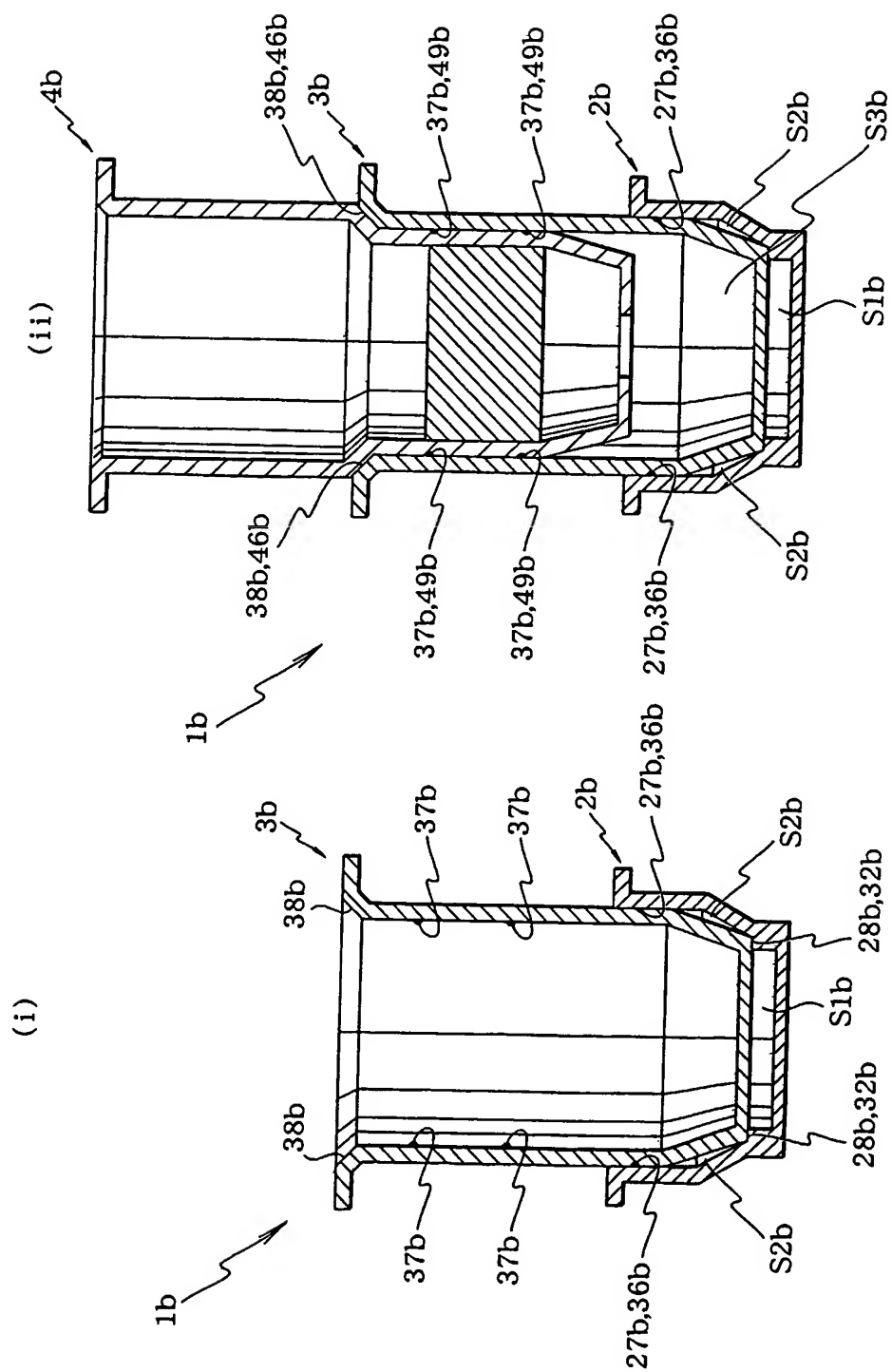




図 9

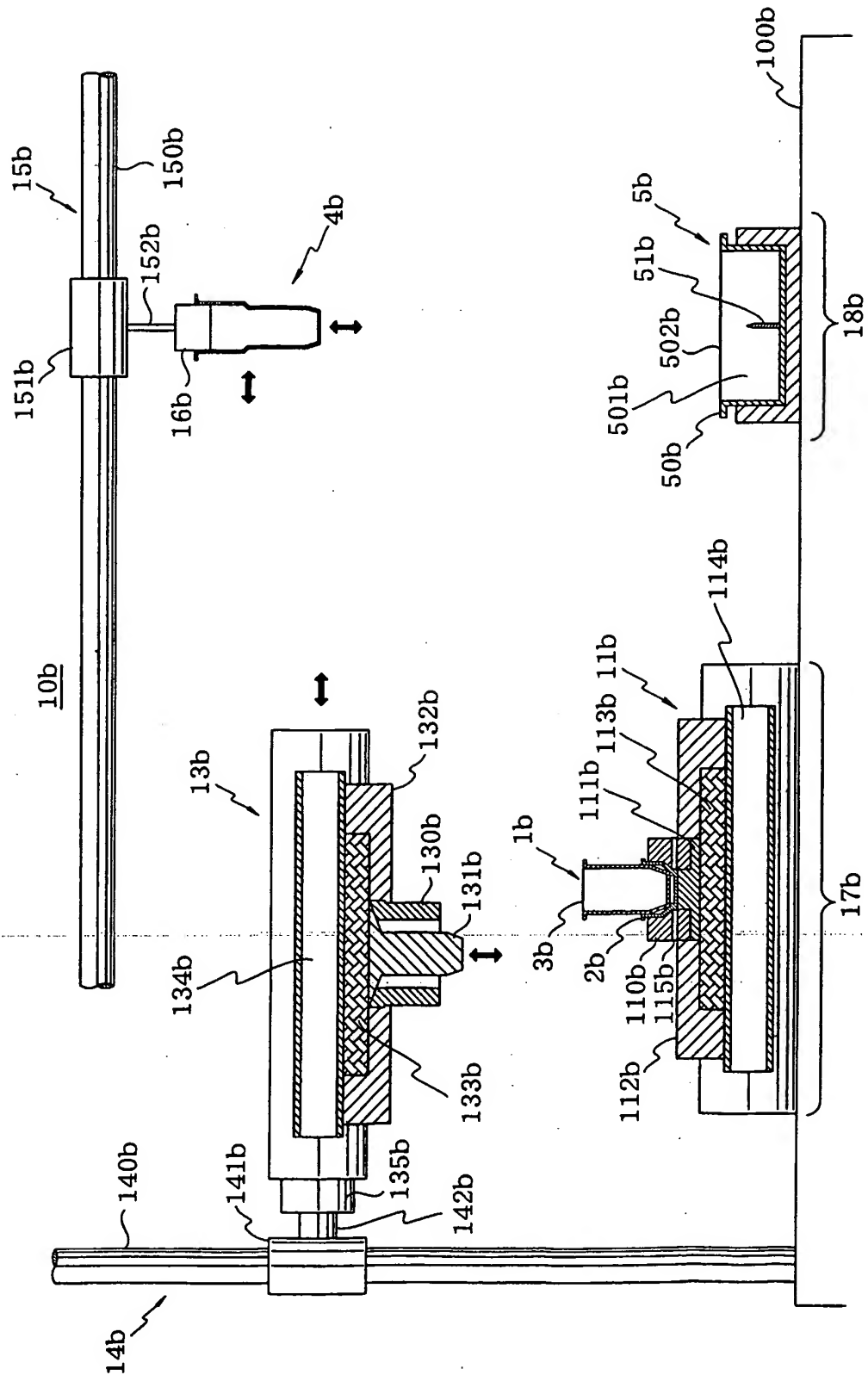
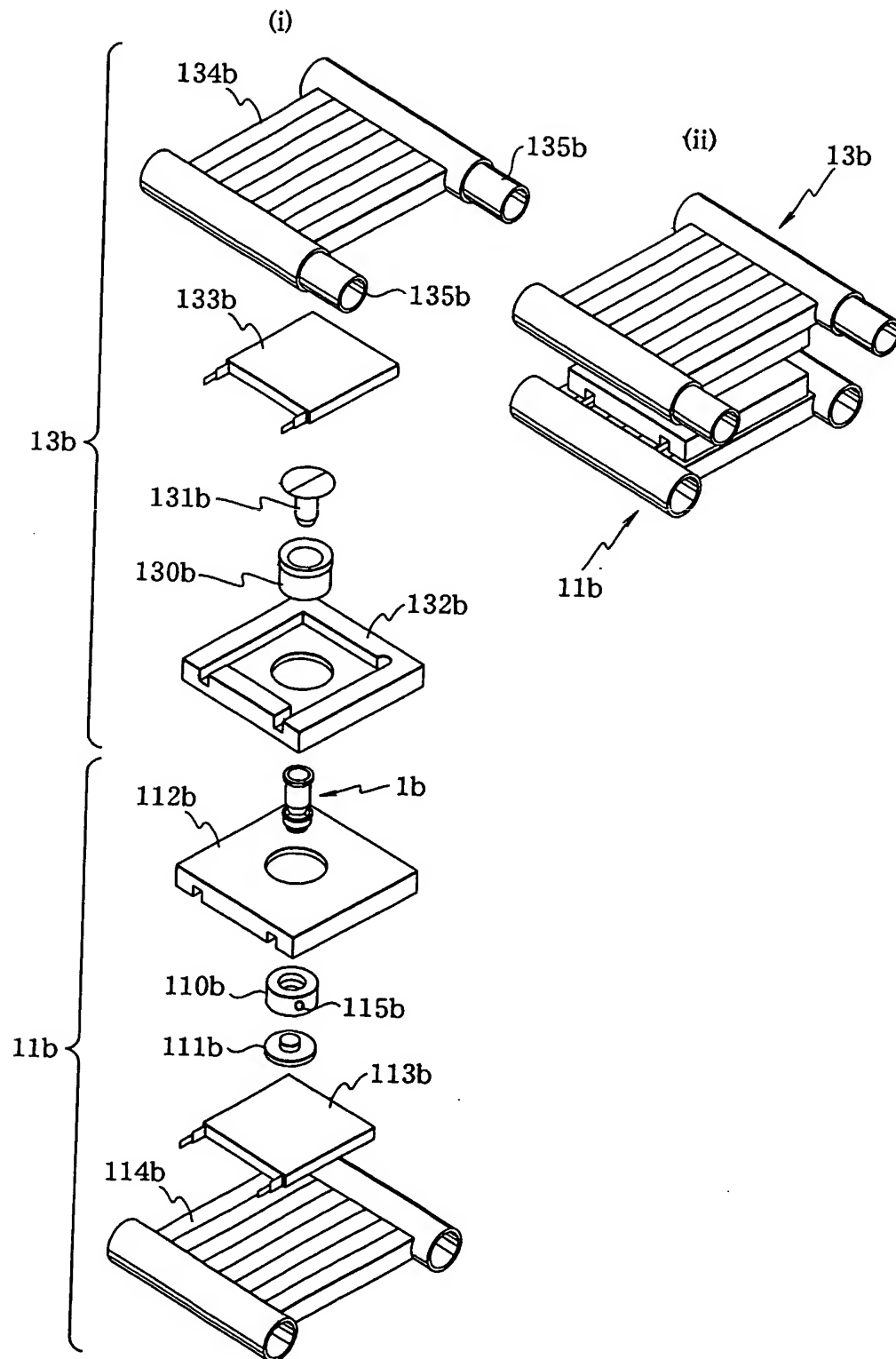


図 10



1 1

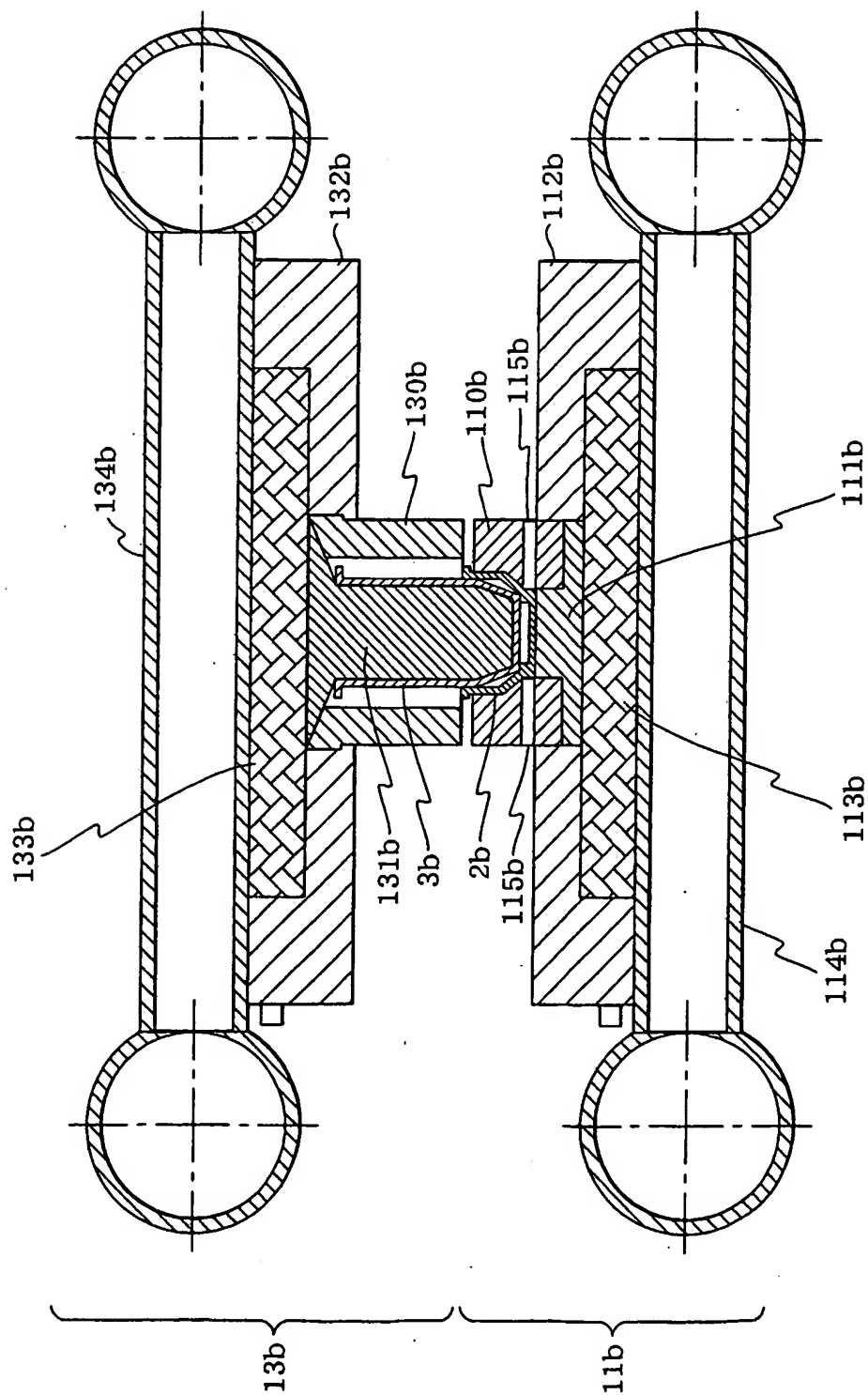
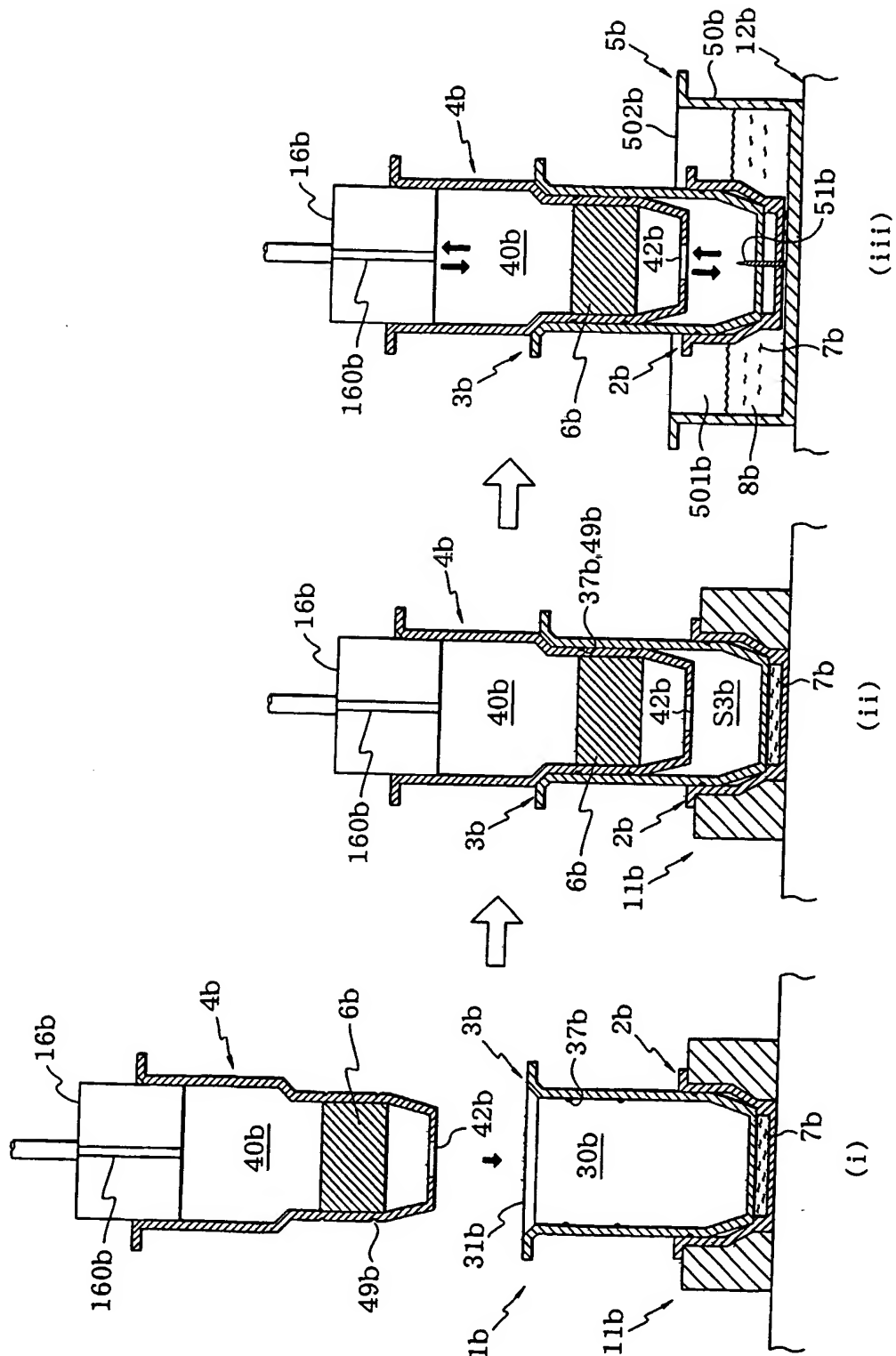


図 1 2



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/06852

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> C12M1/00, C12N15/09, C12Q1/68, B01J19/00, G01N33/50

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> C12M1/00, C12N15/09, C12Q1/68, B01J19/00, G01N33/50

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
WPI (DIALOG)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 99/64157 A1 (November AG), 16 December, 1999 (16.12.99), & EP 1096998 A1 & US 2001/0010917 A1 & JP 2002-517219 A	1-17, 29-33, 36, 40-42, 44 18-28, 34, 35, 37-39, 43
Y	WO 95/11262 A1 (Univ. Leland Stanford Junior), 27 April, 1995 (27.04.95), & EP 734397 A1 & US 5472672 A & JP 9-507505 A	18-28, 35, 38, 39, 43
Y	WO 96/15450 A1 (David Sarnoff Research Center), 23 May, 1996 (23.05.96), & EP 808456 A1 & JP 11-500602 A	34, 37
Y	EP 512334 A2 (Hoffmann La Roche AG), 11 November, 1992 (11.11.92), & US 5994056 A & JP 10-201464 A	34, 37

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art  
"&" document member of the same patent familyDate of the actual completion of the international search  
06 August, 2002 (06.08.02)Date of mailing of the international search report  
20 August, 2002 (20.08.02)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C12M1/00, C12N15/09, C12Q1/68, B01J19/00, G01N33/50

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C12M1/00, C12N15/09, C12Q1/68, B01J19/00, G01N33/50

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)  
WPI (DIALOG)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X <u>Y</u>	WO 99/64157 A1 (November AG) 1999. 12. 16 & EP 1096998 A1 & US 2001/0010917 A1 & JP 2002-517219 A	1-17, 29-33, <u>36, 40-42, 44</u> 18-28, 34, 35, 37-39, 43
Y	WO 95/11262 A1 (Univ. Leland Stanford Junior) 1995. 04. 27 & EP 734397 A1 & US 5472672 A & JP 9-507505 A	18-28, 35, 38, 39, 43
Y	WO 96/15450 A1 (David Sarnoff Research Center) 1996. 05. 23 & EP 808456 A1 & JP 11-500602 A	34, 37

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

06. 08. 02

国際調査報告の発送日

20.08.02

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田村 明 照 (印)

4 B

8 4 1 2

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	EP 512334 A2 (Hoffmann La Roche AG) 1992.11.11 & US 5994056 A & JP 10-201464 A	34, 37





**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**